

Mestrado Integrado em Engenharia Química

Métodos de análise da cinética de entrada de oxigénio em garrafa de vinho tranquilo e espumante por quimioluminescência

Tese de Mestrado

de

Paula Dias Silva

Desenvolvida no âmbito da unidade curricular de Dissertação

Realizado em

Amorim & Irmãos, S.A. - Investigação e Desenvolvimento



Orientador na FEUP: Prof. Doutora Margarida Bastos

Orientador na Amorim & Irmãos, S.A.: Prof. Doutor Miguel Cabral

Departamento de Engenharia Química

fevereiro de 2014

Agradecimentos

A tese de mestrado é um projeto individual e de desenvolvimento pessoal, todavia não poderia deixar de agradecer a todos aqueles que contribuíram em prol da sua realização.

Em primeiro lugar, agradeço à empresa Amorim & Irmãos por ter financiado e proporcionado as condições necessárias à realização deste projeto, introduzindo assim o primeiro contacto com um ambiente profissional. Assim, o meu primeiro agradecimento é dirigido ao meu supervisor, Prof. Doutor Miguel Cabral, pelo conhecimento transmitido, interesse, supervisionamento, encorajamento e críticas construtivas dadas no decorrer do trabalho. Gostaria de agradecer também ao Doutor Paulo Lopes, que me acompanhou durante a evolução do projeto, apoiou na procura bibliográfica e desenvolvimento técnico, sempre determinado em contribuir e tornar possível a realização deste projeto. Um agradecimento à Doutora Isabel Roseira pela boa disposição e simpatia demonstrada. Às colegas de estágio, Flávia Figueiredo e Magda Sá, assim como aos colaboradores e colegas de trabalho do Departamento de Investigação e Desenvolvimento, Ana Malheiro, Carlos Costa, Eliana Reis, Patrícia Oliveira e Salomé Reis, que todos os dias me acompanharam, agradeço pelo apoio no desenvolvimento laboratorial, integração na empresa e contribuição para um ótimo ambiente de trabalho. A todos os colaboradores do Labcork pela simpatia demonstrada e pela disponibilização de todo o material necessário ao desenvolvimento do projeto um muito obrigada. Por último, ao corpo integrante do laboratório da Champcork pela disponibilidade demonstrada sempre que necessária a deslocação às suas instalações.

Em seguida, agradeço à minha orientadora académica, Prof. Doutora Margarida Bastos, por toda a ajuda e compreensão demonstrada, assim como o interesse e apoio dado na componente química e orgânica do projeto. Dirijo também um agradecimento a todos os professores do Departamento de Engenharia Química pelos ensinamentos transmitidos ao longo do curso.

Aos familiares, em especial aos meus pais, agradeço pelo apoio incondicional, incentivo, confiança e dedicação nesta última etapa do meu percurso académico.

Ao Helder um agradecimento pelo encorajamento e motivação, boa disposição e alegria, assim como paciência demonstrada no decorrer destes cinco meses de projeto.

Por último, agradeço a todos aqueles que de alguma forma mostram interesse na realização deste projeto, em especial a todos os meus amigos, que sempre me apoiaram e incentivaram a dar o meu melhor, “amigos são a família que nos permitiram escolher” (William Shakespeare).

Mais uma vez, o meu sincero agradecimento a todos vocês.

Resumo

O presente projeto apresenta como principal objetivo o estudo de métodos de análise da cinética de entrada de oxigênio em garrafa, através de diferentes vedantes, para vinho tranquilo e vinho espumante.

Os métodos de análise estudados foram a colorimetria e a quimioluminescência. Utiliza-se o método de colorimetria apenas para vinho tranquilo e o método da quimioluminescência para vinho espumante e também vinho tranquilo. A escolha dos vedantes em estudo depende do vinho utilizado: para vinho tranquilo utilizam-se rolhas de cortiça natural, rolhas técnicas (Neutrocork®) e vedantes sintéticos (Nomacorc®); para vinho espumante utilizam-se rolhas SparkTopOne (Um Disco), rolhas microaglomerada Mytik Diamant e rolhas Spark (Dois Discos).

Observou-se que o método da colorimetria é o que apresenta em média os valores de transmissão de oxigênio mais baixos comparativamente com o método das garrafas vazias por quimioluminescência. O método que utiliza a quimioluminescência para garrafas com solução ácida não é apropriado, uma vez que há consumo de oxigênio. A otimização do estudo de transmissão de oxigênio para vinhos efervescentes permitiu iniciar o estudo da quimioluminescência aplicada a vinhos espumantes, onde se observa que as rolhas com dois discos apresentam maior transferência de oxigênio, enquanto o valor mais baixo pertence às rolhas com um disco.

Palavras-chave: cortiça, vinho espumante, transmissão de oxigênio, quimioluminescência, colorimetria

Abstract

This project's main objective is the study of analysis methods of the oxygen ingress' kinetics into bottle, through different closures, for quiet and sparkling wine.

The analysis methods studied were the colorimetric method and chemiluminescence. The colorimetric method was only used for quiet wine and chemiluminescence was not only used for quiet wine but also for sparkling wine. According to the type of wine chosen different closures were used, for quiet wine natural corks, technical corks (Neutrocork®) and synthetic closures (Nomacorc®) were used; for sparkling wine the chosen closures were SparkTopOne (One Disc), microagglomerated Mytik Diamant and Spark (Two Discs).

At the end of this project, it was possible to conclude that the colorimetric method is the one that presents the lowest average values of oxygen transmission rate if compared with chemiluminescence using empty bottles. Since the chemiluminescence method for bottles with acid solution presents oxygen consumption, it is considered not appropriate for this study. The optimization of the study about the oxygen transmission rate allowed us to start the study of chemiluminescence applied to sparkling wines in which was possible to observe that stoppers with two discs have the higher oxygen transmission rate, while the lowest value belongs to the one disc closures.

Keywords: cork, sparkling wine, oxygen transmission, chemiluminescence, colorimetry

Declaração

Declara, sob compromisso de honra, que este trabalho é original e que todas as contribuições não originais foram devidamente referenciadas com identificação da fonte.

Porto, 27 de janeiro de 2014,

(Paula Silva)

“A cortiça é um material natural com fortes mais valias aos níveis do tato e do olfato e com versatilidade para ser esculpida, cortada, moldada e formada, como é demonstrado em muitos exemplos históricos de modelos arquitetónicos baseados na cortiça.”

Herzog & de Meuron e Ai Weiwei

Índice

1	Introdução	1
1.1	Enquadramento e Apresentação do Projeto	1
1.2	Apresentação da Empresa	1
1.3	A Cortiça	2
1.4	Vedantes	3
1.5	Relação Oxigénio, Vedante, Vinho	6
1.6	Contributos do Trabalho	8
1.7	Organização da Tese	9
2	Contexto e Estado da Arte.....	10
3	Descrição Técnica.....	15
3.1	Estudo da transferência de oxigénio de rolhas para vinho tranquilo	15
3.1.1	Vedantes em estudo	15
3.1.2	Garrafas	16
3.1.3	Procedimento pelo método da colorimetria	16
3.1.4	Procedimento pelo método da quimioluminescência.....	20
3.2	Estudo da transferência de oxigénio de rolhas de vinho espumante	24
3.2.1	Otimização do estudo de transmissão de oxigénio em garrafa para vinhos efervescentes	24
3.2.2	Comparação dos métodos para os diferentes tipos de vedantes.....	30
4	Discussão de Resultados	31
4.1	Estudo da transferência de oxigénio de rolhas para vinho tranquilo	31
4.2	Estudo da transferência de oxigénio de rolhas de vinho espumante	39
5	Conclusões	43
6	Avaliação do Trabalho Realizado	44
6.1	Objetivos Realizados	44
6.2	Outros Trabalhos Realizados	44
6.3	Limitações e Trabalho Futuro	45

6.4	Apreciação final.....	45
7	Referências	46
Anexo 1	Dados para a calibração do equipamento de quimioluminescência	48
Anexo 2	Características e Propriedades dos Sensores PSt6	49
Anexo 3	Otimização do estudo de transmissão de oxigênio para vinhos efervescentes.....	50
Anexo 4	Perfil do gargalo das garrafas de champanhe utilizadas	51
Anexo 5	Perfil do gargalo das garrafas de cerveja	54

Índice de Figuras

Figura 1 - Diferentes tipos de rolhas de cortiça, comercializadas pela A&I.....	4
Figura 2 - Vedantes alternativos às rolhas de cortiça: vedantes sintéticos e cápsulas de rosca	5
Figura 3 - Alterações às características do vinho em função do processo de oxidação/redução	7
Figura 4 - Amostras em estudo: a) Rolha de cortiça natural, b) Rolha Neutrocork [®] , c) Vedante Nomatic [®] Select 300.....	15
Figura 5 - Exemplo de garrafas para medição colorimétrica realçando o gradiente de cor. ...	16
Figura 6 - A. Reação de redução do carmin de índigo pelo ditionato de sódio; B. Reoxidação do carmin de índigo reduzido pelo oxigénio atmosférico.....	17
Figura 7 - a) Colorímetro; b) Garrafa colocada no interior do colorímetro	17
Figura 8 - Garrafa de calibração usada no método colorimétrico	18
Figura 9 - Procedimento de redução do carmin de índigo	19
Figura 10 - Procedimento de oxidação do carmin de índigo.....	19
Figura 11 - Medidor de quimioluminescência: a) fibra ótica; b) sensor de temperatura; c) equipamento; d) entrada dos sensores.....	20
Figura 12 - Princípio da dinâmica de excitação de luminescência pelo oxigénio molecular: 1) Processo de luminescência na ausência de luz; 2) Desativação da molécula indicadora de luminescência pelo oxigénio molecular	21
Figura 13 - Esquema da medição por quimioluminescência	22
Figura 14 - Garrafas vazias (à esquerda) e com solução ácida (à direita): a) vedante Nomatic [®] ; b) rolha Neutrocork [®] ; c) rolha de cortiça natural	23
Figura 15 - Amostras em estudo: a) Rolha microaglomerada Mytik Diamant, b) Rolha SparkTopOne (um disco), c) Rolha Spark (dois discos).....	26
Figura 16 - a) Garrafa de champanhe utilizada no projeto e respetivo gargalo (b).....	26
Figura 17 - Garrafa de champanhe utilizada no projeto com os sensores e o tubo de ensaio com NaHCO ₃ no interior: a) antes do engarrafamento; b) após o engarrafamento	27
Figura 18 - Exemplo de extração do oxigénio no interior da garrafa por corrente de azoto: a) numa garrafa vazia; b) numa garrafa com solução ácida	28

Figura 19 - Máquina de compressão/inserção	29
Figura 20 - Garrafas de espumantes vedadas com diferentes rolhas analisadas durante o projeto.....	30
Figura 21 - Cinética de transmissão de oxigénio através de vedantes Nomacorc® determinada por diferentes métodos.....	32
Figura 22 - Cinética de transmissão de oxigénio através de vedantes Nomacorc® determinada por diferentes métodos, nos primeiros 5 dias de conservação	32
Figura 23 - Taxas de transmissão de oxigénio de vedantes Nomacorc® determinadas por diferentes métodos	33
Figura 24 - Cinética de transmissão de oxigénio através de rolhas Neutrocork® determinada por diferentes métodos.....	34
Figura 25 - Cinética de transmissão de oxigénio através de rolhas Neutrocork® determinada por diferentes métodos, nos primeiros 5 dias de conservação	34
Figura 26 - Cinética de transmissão de oxigénio através de rolhas Neutrocork® determinada por diferentes métodos.....	35
Figura 27 - Cinética de transmissão de oxigénio através de rolhas de cortiça natural determinada por diferentes métodos	36
Figura 28 - Cinética de transmissão de oxigénio através de rolhas de cortiça natural determinada por diferentes métodos, nos primeiros 5 dias de conservação.	37
Figura 29 - Cinética de transmissão de oxigénio através de rolhas de cortiça natural, não considerando os outliers determinada por diferentes métodos	38
Figura 30 - Cinética de transmissão de oxigénio através de rolhas de cortiça natural, considerando os outliers determinada por diferentes métodos	38
Figura 31 - Cinética de transmissão de oxigénio através de rolhas de vinho espumante	39
Figura 32 - Evolução do oxigénio no headspace da garrafa.....	40
Figura 33 - Evolução no oxigénio dissolvido da garrafa	40
Figura 34 - Cinética de transmissão de oxigénio através de rolhas para vinho espumante	41
Figura 35 - Cinética de transmissão de oxigénio através de diferentes vedantes.....	42

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Composição química média da cortiça virgem e da cortiça amadia de 10 árvores da região de Mora	3
Tabela 2 - Taxa de transferência de oxigénio (OTR), expressa em mg de oxigénio permeado por vedante e por ano, para diferentes tipos de vedantes usados no engarrafamento de vinho	6
Tabela 3 - Taxa de transmissão de oxigénio através de diferentes vedantes.....	13
Tabela 4 - Otimização da pressão em garrafa para vinhos efervescentes.....	25
Tabela A1. 1 - Valores para a calibração do equipamento de quimioluminescência, para os sensores PSt6	48
Tabela A2. 1 - Características dos sensores PSt6	49
Tabela A2. 2 - Propriedades dos sensores PSt6.....	49
Tabela A3. 1 - Dados para a determinação de diferentes pressões em vinho efervescente	50

Notação e Glossário

HS	Oxigénio no <i>Headspace</i>	mg
OD	Oxigénio Dissolvido	mg
OTR	Taxa de Transferência de Oxigénio	mg/dia

Lista de Siglas

A&I	Amorim & Irmãos, S.A.
APCOR	Associação Portuguesa da Cortiça
ECD	Detetor de Captura Eletrónica
GA	Garrafa Ácida
GC	Cromatografia Gasosa
GV	Garrafa Vazia
I&D	Investigação e Desenvolvimento
MS	Espectroscopia de Massa
PVC	Policloreto de vinilo
PVDC	Cloreto de Polivinilideno
S.A.	Sociedade Anónima
SPME	Microextração de Fase Sólida
TCA	2,4,6-Tricloroanisol
UV-Vis	Ultravioleta Visível

1 Introdução

1.1 Enquadramento e Apresentação do Projeto

O presente projeto tem como objetivo o estudo dos métodos para medição da transferência de oxigénio através das rolhas para vinhos tranquilos e para espumantes utilizando técnicas de colorimetria e de quimioluminescência.

Uma vez que a quantidade de oxigénio em garrafa é um fator importante na maturação dos vinhos, pretende-se com este trabalho otimizar um método para quantificar a transferência de oxigénio em garrafas de vinho espumante. Após esta otimização, o método foi utilizado para determinar a transferência de oxigénio dos três principais vedantes de vinhos efervescentes: rolhas SparkTopOne (um disco), rolhas Spark (dois discos) e rolhas microaglomeradas Mytik Diamant. Após o engarrafamento, as garrafas foram conservadas em posição horizontal.

1.2 Apresentação da Empresa

Portugal é o líder mundial do sector da cortiça, tendo em 2011 assumido uma quota de 62% de exportação de produtos de cortiça. O principal sector de destino dos produtos de cortiça é a indústria vinícola; as rolhas de cortiça lideraram as exportações portuguesas de cortiça, assumindo 70% do seu valor total, correspondendo a 563 milhões de euros (Anuário APCOR, 2012).

A Corticeira Amorim SGPS, S.A. é a maior empresa mundial de produtos de cortiça e uma das mais internacionais de todas as empresas portuguesas; tem presença em mais de 100 países, espalhados por todos os continentes, com 84 empresas, 30 unidades industriais e 296 agentes. As cinco principais unidades de negócio da empresa são: matérias-primas, rolhas, revestimentos, aglomerados compósitos e isolamentos. “De uma simples unidade familiar de produção de rolhas para vinhos, passamos à liderança de todo o sector da cortiça (sem detenção de floresta), desenvolvendo novos produtos e aplicações de cortiça, integrando o processo produtivo garantindo a valorização económica da cortiça sem produção de resíduos, investigando e inovando rumo ao reforço da qualidade e da diversidade da oferta” (António Rios de Amorim).

Em 2012, as vendas da Corticeira Amorim ultrapassaram pela primeira vez a barreira dos 500 milhões de euros, tendo-se registado crescimentos nas vendas em todas as unidades de negócios. Em relação a 2011, o resultado líquido atribuível aos acionistas da Corticeira

Amorim teve um crescimento de 22,9%, atingindo os 31 milhões de euros (Corticeira Amorim, 2012).

A Amorim & Irmãos, S.A. (A&I) insere-se no setor da Amorim Natural Cork e é o maior produtor e fornecedor mundial de rolhas de cortiça. As unidades de produção encontram-se sediadas maioritariamente em Portugal, mas também em Espanha. Por sua vez, as unidades de distribuição encontram-se espalhadas por diversos países, tais como Austrália, Estados Unidos da América, Alemanha, Itália, França, Argentina, Chile, África do Sul, etc. (Corticeira Amorim, 2012).

1.3 A Cortiça

Portugal concentra 34% da área mundial de montado de sobreiro, o que corresponde a uma área de 716 mil hectares e 22,5% da floresta nacional, sendo que o sobreiro encontra-se maioritariamente no Alentejo (84%). A produção mundial da cortiça ascende a 201 mil toneladas, destacando-se mais uma vez Portugal como o líder na produção, com 49,6% e 100 mil toneladas (Anuário APCOR, 2012).

A cortiça é obtida do sobreiro (*Quercus suber* L.), constituindo o revestimento exterior do seu tronco e ramos. A sua extração é feita periodicamente, de 9 em 9 anos, sob a forma de pranchas. Os sobreiros integram-se em montados, sistemas agro-silvipastoris de uso múltiplo, e desenvolvem-se nas zonas mediterrânicas e mediterrânicas de influência atlântica, estendendo-se à Península Ibérica, ao sul de França e Itália e ao norte de África. O sobreiro apresenta um crescimento lento e de longa longevidade podendo atingir entre os 250 e 350 anos, porém considera-se que a idade limite para produção de cortiça varia entre os 150 e 200 anos (Fortes *et al.*, 2004).

Em Portugal, o Decreto-Lei 11/97, de 14 de Janeiro, regulamenta a extração de cortiça dos sobreiros. A cortiça virgem, primeira cortiça produzida pelo sobreiro, é extraída quando a árvore atinge 70 cm de perímetro do tronco, o que acontece por volta dos 20 a 30 anos. Uma vez que as duas primeiras extrações apresentam sulcos e fendas verticais aprofundadas na superfície, apenas a terceira camada de cortiça extraída do sobreiro, cortiça amadia, é utilizada para a produção de rolhas, sendo que as pranchas devem apresentar uma espessura mínima de cerca de 27 mm (Fortes *et al.*, 2004).

A cortiça difere dos restantes materiais lenhocelulósicos (por exemplo a madeira) pela sua anatomia e pela sua composição química (Tabela 1), dado que o principal componente das paredes celulares é a suberina. A suberina é uma estrutura lipídica do tipo poliéster que confere impermeabilidade às células de cortiça. Por sua vez, a lenhina, segundo componente estrutural mais importante das paredes celulares da cortiça, possui funções de suporte para os restantes componentes estruturais (Fortes *et al.*, 2004).

Tabela 1 - Composição química média da cortiça virgem e da cortiça amadia de 10 árvores da região de Mora (Fortes *et al.*, 2004).

Componente	% em peso seco	
	Cortiça Virgem	Cortiça Amadia
Suberina	35,2 ± 3,1	39,4 ± 1,7
Lenhina	22,4 ± 1,1	24,0 ± 0,8
Polissacarídeos	21,3 ± 2,4	19,9 ± 2,6
Extrativos	16,9 ± 2,5	14,2 ± 1,1
Cinzas	0,9 ± 0,2	1,2 ± 0,2

1.4 Vedantes

Desde que, no século XVII, Dom Pérignon introduziu as rolhas de cortiça, estas têm sido a tradicional escolha como vedantes de vinhos tranquilos e espumantes. Apesar de a matéria-prima principal ser a mesma, as dimensões e processos de fabrico variam, dando assim origem a diferentes tipos de vedantes:

- As rolhas naturais (Figura 1 a), obtidas diretamente da prancha de cortiça por brocagem, pelas suas características de elasticidade, compressibilidade, constituição celular e inocuidade são o único vedante capaz de assegurar a hermeticidade em qualquer estilo de vinho (APCOR, 2011).
- As rolhas naturais colmatadas (Figura 1 b) são rolhas de cortiça natural com os poros (lenticelas) preenchidos exclusivamente com pó de cortiça, resultante da retificação das rolhas naturais. Para a fixação do pó nas lenticelas é utilizada uma cola à base de resina natural e de borracha natural. A colmatagem serve essencialmente para melhorar o aspeto da rolha e para aumentar a sua performance, assim estas rolhas apresentam uma aparência visual bastante homogênea e com boas características mecânicas (APCOR, 2011).
- As rolhas técnicas de cortiça (Figura 1 c), concebidas para engarrafar vinhos destinados a ser consumidos num prazo de 2 a 3 anos, são constituídas por um corpo denso de cortiça aglomerada com discos de cortiça natural colados no seu topo ou em ambos os topos (APCOR, 2011).
- As rolhas aglomeradas (Figura 1 d) são fabricadas a partir de granulados da cortiça provenientes de subprodutos resultantes da produção de rolhas naturais, estas podem ser fabricadas por moldagem individual ou por extrusão. As rolhas aglomeradas são uma solução económica para assegurar uma vedação perfeita por um período que não deverá

superar os 24 meses e são ainda completamente homogêneas dentro do lote (APCOR, 2011).

- As rolhas de espumante (Figura 1 e) são rolhas especialmente concebidas para vedar champanhe, vinhos espumantes e sidra. Estas rolhas são produzidas a partir de um corpo formado por aglomerado de grânulos de cortiça, ao qual, num dos topos, é aplicado um, dois ou três discos de cortiça natural selecionada. As rolhas de champanhe têm um diâmetro maior que as restantes rolhas, uma vez que suportam elevadas pressões (até 8 bar de pressão interna) nas garrafas de vinhos com gás (APCOR, 2011).
- As rolhas capsuladas (Figura 1 f) são rolhas de cortiça em que no topo é colocada uma cápsula de madeira, policloreto de vinilo (PVC), porcelana, metal, vidro ou outro material. Estas rolhas, por serem de fácil reutilização, são geralmente utilizadas em vinhos licorosos ou em bebidas espirituosas que, quando saem para o mercado, estão prontos a serem consumidos (APCOR, 2011).



Figura 1 - Diferentes tipos de rolhas de cortiça, comercializadas pela A&I (AmorimCork, 2013).

A rolha de cortiça é a eleita pelos consumidores no que toca a vedantes para o seu vinho, pois associam-na a vinho de qualidade, à tradição e ao ritual vínico, relacionando as cápsulas de rosca a vinho barato e as rolhas de cortiça a vinho de qualidade. As propriedades naturais da rolha de cortiça (leveza, flexibilidade, impermeabilidade, imputrescibilidade, reciclável e amiga do ambiente) oferecem à indústria vinícola um vedante com propriedades muito particulares (APCOR, 2011).

Tendo em conta o problema do gosto a mofo no vinho, com possível origem nas rolhas de cortiça em conjunto com o facto da estrutura, dimensão e características mecânicas das rolhas serem difíceis de controlar, emergiram no mercado, durante os anos 90, novos tipos de vedantes: vedantes sintéticos e cápsulas de rosca. Os vedantes sintéticos (Figura 2 a) são produzidos por injeção ou extrusão de polímeros plásticos que devem ser capazes de assegurar a inércia química e microbiológica. De acordo com os seus produtores, os vedantes sintéticos conseguem preservar algumas das propriedades do vinho durante 1 a 2 anos após engarrafamento, porém admitem uma entrada constante e significativa de oxigénio na garrafa. As cápsulas de rosca (Figura 2 b) tornaram-se recentemente populares na Austrália e na Nova Zelândia como vedantes de bebidas brancas. A cápsula proporciona uma vedação hermética não permitindo a entrada de oxigénio dentro da garrafa ao longo do tempo. O revestimento interior da cápsula de rosca é tipicamente constituído por um filme de 19 μm de poli(cloreto de vinilideno) (PVDC) em contacto com o vinho, de uma camada de 20 μm de folha de alumínio como barreira ao gás e um enchimento de 2 μm de polietileno para manter a compressão. Este tipo de vedantes apresenta como desvantagens a insuficiente difusão de oxigénio através da cápsula e o consequente desenvolvimento de aromas de redução (borracha, alho, esgoto, sulfídrico, etc.) durante o tempo de conservação em garrafa (Silva *et al.*, 2011).



Figura 2 - Vedantes alternativos às rolhas de cortiça: vedantes sintéticos (Circuitiverdi, 2013) e cápsulas de rosca (Diytrade, 2013).

Como referido anteriormente, diferentes tipos de vedantes conduzem a diferentes taxas de transferência de oxigénio (OTR) para o interior da garrafa (Tabela 2). Este parâmetro é essencial para o vinho uma vez que irá ter um impacto fundamental na sua evolução em garrafa.

Tabela 2 - Taxa de transferência de oxigénio (OTR), expressa em mg de oxigénio permeado por vedante e por ano, para diferentes tipos de vedantes usados no engarrafamento de vinho¹ (Karbowski *et al.*, 2010).

Tipo de Vedante	OTR (mg O ₂ /vedante/ano)
Rolha Aglomerada	0,09
Rolha Técnica (Twin Top [®])	0,18
Rolha de Champanhe	0,31 a 0,99
Cápsulas de Rosca	0,61
Rolha Técnica (Neutrocork [®])	0,91
Rolha Natural	2,19 a 4,56
Vedante Sintético (Nomacorc [®])	7,76

1.5 Relação Oxigénio, Vedante, Vinho

A embalagem desempenha um papel fundamental na qualidade dos alimentos, uma vez que providencia uma proteção contra alterações ambientais, químicas e físicas. Esta proteção pode ser tão simples como proteger o produto de ruturas ou atuar como barreira protetora de humidade, oxigénio, dióxido de carbono e outros gases, assim como sabores e aromas (Risch, 2009). A tradicional garrafa de vidro é a embalagem mais utilizada para armazenamento de vinhos, sendo as restantes latas, pacotes e garrafas de poli(tereftalato de etileno) (PET). Outros elementos importantes do armazenamento de vinho são os vedantes, que se estimam em aproximadamente 18 mil milhões de unidades por ano. As rolhas de cortiça constituem 70% de quota de mercado, os vedantes sintéticos constituem 15 a 20% e as cápsulas de rosca constituem 10 a 15% (Bates, 2010).

O oxigénio é um parâmetro chave no que toca à evolução do vinho. Após a dissolução no vinho, o oxigénio desencadeia uma série de reações que são responsáveis por alterar o aroma, a cor e o gosto. Os vinhos engarrafados continuam a evoluir durante o seu tempo de conservação. Recentemente, demonstrou-se que os vedantes (Tabela 2) afetam dramaticamente a evolução dos vinhos, uma vez que permitem a permeação de oxigénio para o interior das garrafas. Assim, o mesmo vinho pode desenvolver-se de formas distintas devido

¹ Análise feita num período de 2 a 12 meses, à temperatura de 20 °C, com um gradiente de O₂ entre 0 e 21 %, pelo método da colorimetria e com uma humidade relativa de 65 % (com exceção das cápsulas de rosca que foram analisadas num período superior a 22 meses, por perda de SO₂ e para uma temperatura entre os 13 e 31 °C)

à diferente permeabilidade ao oxigénio dos vedantes utilizados. Desta forma, o controlo da entrada de oxigénio, através dos vedantes, torna-se crítico, para a evolução do vinho em garrafa (Diéval *et al.*, 2011).

Quando o vedante é inserido no gargalo, este é comprimido e o ar é expelido em todas as direções, incluindo o interior da garrafa e, por conseguinte, o ar no vedante pode-se transferir para o *headspace* (volume de ar no gargalo). Após o engarrafamento e durante o armazenamento, a maior oportunidade para a exposição ao oxigénio é através do vedante. A taxa de transferência de oxigénio (OTR) dos vedantes depende sobretudo da permeabilidade do material aos gases e em particular ao oxigénio, mas também da área de superfície do vedante, do seu comprimento e da diferença de concentração de oxigénio no interior e exterior da garrafa (Skouroumounis & Waters, 2007).

Hoje em dia, admite-se que a entrada de pequenas quantidades contínuas e controladas de oxigénio podem ser benéficas para a maturação do vinho tinto, uma vez que as reações fenólicas oxidativas levam à melhoria da cor e à redução da adstringência. Por sua vez, para a produção e armazenamento de vinhos brancos, qualquer exposição ao oxigénio, exceto na oxidação do mosto, é considerada negativa, uma vez que o vinho perde os aromas obtidos da fermentação e o aroma frutado, desenvolvendo características oxidativas, acompanhadas do escurecimento da cor do vinho (Lopes *et al.*, 2009).

Desta forma, o controlo da entrada de oxigénio em garrafa é uma crescente preocupação para os vinicultores, uma vez que as operações de oxidação/redução alteraram as características do vinho engarrafado (Figura 3). Assim sendo, durante o envelhecimento em garrafa, o vedante possui um papel importante na evolução do vinho.

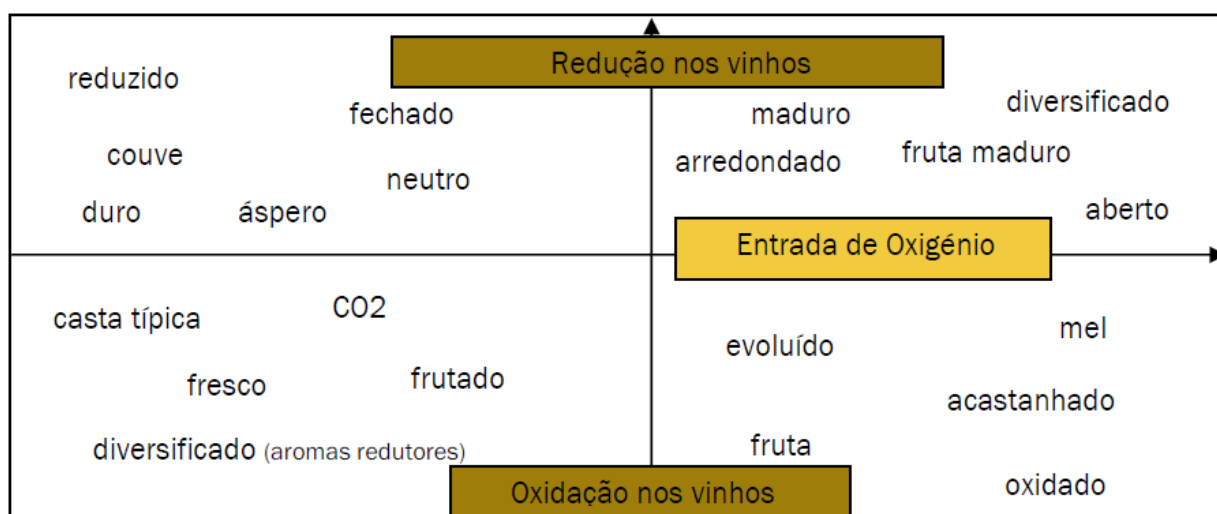


Figura 3 - Alterações às características do vinho em função do processo de oxidação/redução (Cork Information Bureau, 2010).

Vários métodos têm vindo a ser desenvolvidos com o intuito de medir a quantidade de oxigénio ou oxidação das bebidas após o engarrafamento. Os primeiros métodos desenvolvidos eram destrutivos em relação ao vedante, uma vez que não era possível analisar uma garrafa sem comprometer o vedante. Assim, desenvolveram-se métodos não-destrutivos, porém estas técnicas não determinavam a exposição ao oxigénio com precisão. Um novo método baseado na colorimetria foi desenvolvido por Ribéreau-Gayon, em 1933, para estimar a quantidade de oxigénio baseado na mudança de cor devida à reação de oxidação/redução do carmin de índigo (Lopes *et al.*, 2005).

Um outro método não destrutivo emergiu no mercado, tendo por base a determinação da concentração de oxigénio através de uma tecnologia ótica - método da quimioluminescência. Este método permite efetuar medições ao nível de oxigénio na mesma garrafa por um longo período de tempo, sem alterar as suas propriedades, medindo diretamente a sua concentração (Bunner *et al.*, 2010). Posteriormente a técnica da quimioluminescência adaptou-se a vinhos espumantes, tendo o Laboratoire du Pôle Technique & Environnement, do Comité Interprofessionnel du Vin de Champagne (CIVC), desenvolvido ensaios de medição das perdas de dióxido de carbono e de entrada de oxigénio através da rolha para vinhos espumantes (Valade *et al.*, 2012).

1.6 Contributos do Trabalho

A empresa Amorim e Irmãos, S.A., é desde há longos anos a líder mundial no mercado das rolhas de cortiça; contudo, no final dos anos 90, sofreu uma perda de quota de mercado devido à introdução de vedantes alternativos. Consciente destes riscos, a empresa decidiu, no ano de 2000, criar o Departamento de Investigação e Desenvolvimento, concentrando a sua atuação principalmente no desenvolvimento sensorial e técnico das rolhas de cortiça.

A prioridade número um do Departamento de I&D é a melhoria da performance sensorial das rolhas de cortiça e em especial a erradicação de 2,4,6-Tricloroanisol (TCA), porém, à medida que este problema foi sendo controlado, este departamento foi alargando a sua área de atuação, como por exemplo, ao aspeto da interação rolha-vinho e em particular ao estudo do ingresso de oxigénio através de diferentes vedantes em garrafas de vinho tranquilo e vinho espumante. Já desde 2005 que o departamento I&D da Amorim & Irmãos, em colaboração com a Faculdade de Enologia de Bordéus, tinha otimizado um método de medição de transferência de oxigénio por colorimetria, contudo, recentemente, a quimioluminescência, surgiu no mercado com o mesmo objetivo.

Assim, este projeto contribuiu positivamente para a empresa, uma vez que foram estudadas pela primeira vez duas técnicas de medição da transferência de oxigénio em garrafa de vinho, a colorimetria e a quimioluminescência. Neste trabalho realizou-se também a otimização do

método de medição de oxigénio permeado por rolhas destinadas a bebidas efervescentes. Desta forma pôde ser realizado o estudo da transferência de oxigénio de rolhas para vinho espumante.

1.7 Organização da Tese

A presente tese encontra-se dividida em sete capítulos.

No primeiro capítulo começa-se por fazer um enquadramento e apresentação do projeto, assim como uma introdução à Amorim & Irmãos, S.A., empresa onde este se desenvolveu, à matéria-prima utilizada, aos diferentes vedantes disponíveis no mercado e é abordada a temática do oxigénio, vedantes e vinho.

No segundo capítulo faz-se a contextualização e estado da arte, onde se apresentam os métodos e técnicas desenvolvidas no estudo da transmissão de oxigénio, assim como os propósitos que levaram ao desenvolvimento deste projeto.

No terceiro capítulo descreve-se o trabalho laboratorial efetuado ao longo do projeto, os procedimentos experimentais utilizados, reagentes e materiais, condições operatórias, ensaios efetuados e os diferentes métodos utilizados.

No quarto capítulo expõem-se os resultados obtidos em cada ensaio, assim como a sua discussão e comparação com resultados já publicados dos métodos existentes.

No quinto capítulo apresentam-se as principais conclusões obtidas ao longo do projeto desenvolvido.

No sexto capítulo avalia-se o trabalho realizado, fazendo referência aos objetivos, identificando os trabalhos realizados em paralelo, assim como as limitações encontradas e uma perspetiva futura do trabalho.

Por fim, no sétimo capítulo listam-se todas as referências bibliográficas utilizadas bem como o material de apoio à escrita e compreensão do projeto realizado.

2 Contexto e Estado da Arte

Um dos principais objetivos inerentes à investigação e desenvolvimento do vinho é encontrar estratégias adequadas para controlar a quantidade de oxigénio durante todo o processo de vinificação, uma vez que é inevitável que os vinhos estejam expostos ao oxigénio nas várias fases de produção. Assim sendo, a principal função de um vedante é assegurar boa vedação, a líquido e gás, e prevenir qualquer deterioração organolética do vinho durante o armazenamento. Ao contrário da garrafa de vidro, a rolha de cortiça não é um material inerte e a sua permeabilidade pode levar à transferência de massa de diversas moléculas de pequenas dimensões, como o oxigénio, dióxido de carbono, água, compostos voláteis, etc. (Karbowiak *et al.*, 2010).

Durante o envelhecimento em garrafa, o vedante possui um papel importante na evolução do vinho. Hoje em dia, reconhece-se que as rolhas naturais são vedantes efetivos em relação ao oxigénio atmosférico; contudo, existem micro quantidades de oxigénio que se difundem da própria rolha, ao longo do tempo, para o interior da garrafa durante o processo de envelhecimento (Lopes *et al.*, 2005). Todavia existem outros fatores que contribuem para o desenvolvimento do vinho na garrafa tais como a oxigenação durante a vinificação, condições da linha de engarrafamento, composição e volume de ar no gargalo (*headspace*), condições de armazenamento e composição do vinho em si (Lopes *et al.*, 2007).

Pasteur foi o primeiro cientista, em 1866, a considerar a importância do oxigénio na produção e envelhecimento do vinho, sendo que, desde os anos 60, investigadores têm vindo a colaborar com os produtores de vinho para sistematicamente identificar os componentes do vinho (Karbowiak *et al.*, 2010).

Por conseguinte, o controlo da quantidade de oxigénio tornou-se um aspeto crítico no processo de vinificação desde as colheitas até ao processo de envelhecimento em garrafa, uma vez que o oxigénio pode deteriorar ou melhorar as características de um vinho. Por exemplo, o oxigénio necessário durante a fermentação (nutriente essencial para a fermentação das leveduras) é diferente do oxigénio necessário durante o envelhecimento (micro-oxigenação contribui para a estabilização da cor, atenuar os taninos e diminuir as características herbáceas) e é também diferente do oxigénio necessário após engarrafamento (o oxigénio que passa pelos vedantes continua a participar na evolução do vinho) (Vidal *et al.*, 2010).

Desta forma, a oxidação dos vinhos apresenta diferentes consequências para as variedades de vinhos brancos e tintos, apesar de a química subjacente ser similar. As adições de oxigénio são geralmente requeridas para a maturação de vinhos tintos antes do engarrafamento, para

melhorar a qualidade do vinho através da remoção de aromas indesejados, para estabilizar a cor, através das reações fenólicas, e para melhorar o paladar, reduzindo a adstringência, sendo difícil prever o nível ótimo de exposição ao oxigénio (Kilmartin, 2009). Por outro lado, a qualidade do vinho branco é geralmente comprometida pela exposição ao ar devido a mudanças nas qualidades sensoriais e cromáticas, levando à oxidação esporádica do vinho. A exposição excessiva ao oxigénio pode induzir alguns sabores indesejados a aldeídos e também conduzir ao desenvolvimento de uma cor acastanhada (Lopes *et al.*, 2005).

Vários métodos têm vindo a ser desenvolvidos com o intuito de medir a quantidade de oxigénio ou oxidação das bebidas após o engarrafamento. Inicialmente desenvolveram-se técnicas para a determinação do potencial de oxidação/redução nomeadamente sonda polarográfica, oxímetro, cromatografia e absorção de luz na zona ultravioleta visível (UV-Vis). No entanto, estes métodos eram destrutivos em relação ao vedante, uma vez que não era possível analisar uma garrafa sem comprometer o vedante. Recentemente têm-se vindo a desenvolver métodos não-destrutivos, tais como medição da absorvância em garrafas brancas ou de cor e a quantificação de ácido acético nas garrafas de vinho por espectroscopia de alta resolução H-NMR, contudo, estas técnicas não quantificam diretamente o oxigénio mas sim o seu impacto na composição química do vinho (Lopes *et al.*, 2005).

Em 1933, Ribéreau-Gayon desenvolveu um método colorimétrico para estimar a taxa de transferência de oxigénio (OTR) em garrafas de vinho. Este método baseia-se na mudança de cor devida à reação de oxidação/redução do carmim de índigo. A solução de carmim de índigo é adicionada às garrafas vazias de vinho e é então reduzida, obtendo-se uma cor amarela, pela adição de ditionato de sódio. As garrafas são então fechadas sob pressão positiva, em vez de vácuo, e ocorre a mudança de cor devido à entrada de oxigénio, sendo esta monitorizada. Este método apresenta como desvantagens o controlo da quantidade de ditionato de sódio necessário a adicionar e a incerteza associada aos mecanismos da reação entre o oxigénio e o carmim de índigo (Skouroumounis & Waters, 2007). Este foi o método que o departamento de I&D da Amorim & Irmãos otimizou em colaboração com a Faculdade de Enologia de Bordéus para a medição da transferência de oxigénio de vedantes de vinho tranquilo. Apresenta como grande vantagem a quantificação total, de forma simples e económica, do oxigénio transferido para o interior de uma garrafa de vinho, ao longo do tempo de conservação, através da simples medição de cor da solução no interior da garrafa. No entanto, apresenta como inconvenientes o facto de não conseguir discriminar com precisão o oxigénio que entrou no engarrafamento e aquele que foi libertado pelas rolhas nos primeiros dias de conservação e não poder ser utilizado para medir a transferência de oxigénio em situações de elevada pressão interna como é o caso dos vinhos espumantes.

Uma outra possibilidade para determinar a concentração de oxigénio é o método da quimioluminescência, sendo este baseado numa tecnologia ótica, consistindo o sistema num instrumento (PreSens-Fibox 3 trace ou OxySense™, por exemplo) recetor/emissor de um feixe luminoso, através de uma garrafa branca, direcionado a um ou dois sensores (OxyDot™) colados no interior da garrafa antes de se colocar o vinho no seu interior. Estes sensores consistem num polímero fluorescente, que absorve a energia luminosa enviada pela fonte emissora e a reenviam, após um certo período de tempo, na forma de luz fluorescente. A medição é baseada no facto de que o tempo de retorno da luz fluorescente é proporcional à concentração de oxigénio presente na proximidade do sensor, permitindo assim quantificar a entrada de oxigénio na garrafa após o engarrafamento. Na ausência de oxigénio, o polímero absorve a energia luminosa enviada pelo instrumento. A medição é baseada no facto do tempo de decaimento da luz fluorescente ser inversamente proporcional à concentração de oxigénio presente na proximidade do sensor. Na presença de oxigénio ocorre uma colisão entre o polímero e o oxigénio, levando à transferência de energia do sensor para o oxigénio, quanto mais elevada a quantidade de oxigénio menor o tempo de decaimento do sinal fluorescente. A quimioluminescência é um método não destrutivo, uma vez que é possível medir o aumento de oxigénio na mesma garrafa durante vários meses, permitindo também medir diretamente a concentração de oxigénio dentro da garrafa (Bunner *et al.*, 2010).

No Laboratoire du Pôle Technique & Environnement, do CIVC, realizaram-se ensaios de medição das perdas de dióxido de carbono e de entrada de oxigénio através da rolha para vinhos espumantes. As medições das perdas de dióxido de carbono foram feitas diretamente numa garrafa sob pressão, tapando-se o gargalo da garrafa com uma tampa metálica à prova de água e, em seguida, fez-se passar um gás de arraste neutro (hélio), o qual foi analisado por cromatografia gasosa para avaliar o seu enriquecimento em dióxido de carbono. Para medir a entrada de oxigénio em garrafa, o gargalo foi cortado e colocou-se uma superfície metálica conectada a um aparelho onde dois tubos asseguravam que o interior era varrido por um gás de arraste neutro (azoto). Posteriormente, por cromatografia gasosa, analisou-se o gás de arraste para avaliar o seu enriquecimento em oxigénio atmosférico que teria entrado na garrafa. Para medir a quantidade de gás dissolvido no vinho utilizou-se um amostrador com duas sondas, uma polarográfica para a quantidade de oxigénio e outra ligada à colorimetria térmica para a quantidade de dióxido de carbono (Valade *et al.*, 2012).

Um estudo realizado por Bunner *et al.*, 2010, testou o método da quimioluminescência para garrafas de vinho espumante sob pressão, de forma a alcançar as condições físico-químicas do champanhe. Desta forma, as garrafas de champanhe, contendo uma solução aquosa de ácido clorídrico, eram colocadas sob pressão interna pela adição de um tubo de ensaio com bicarbonato de sódio no interior da garrafa, momentos antes do seu engarrafamento. A

reação entre os dois elementos liberta dióxido de carbono o que permite atingir uma pressão significativa no interior da garrafa.

Alguns destes métodos permitiram a caracterização da transferência de oxigénio de diferentes vedantes disponíveis no mercado. Um estudo realizado em 2005 por Lopes *et al.* determinou as diferentes taxas de transferência de oxigénio, pelo método da colorimetria, para três tipos de vedantes: rolhas de cortiça natural (1ª classe e 3ª classe), rolhas técnicas (aglomeradas, Neutrocork® e Twin Top®) e vedantes sintéticos (Supremecorq® e Nomacorc®). As taxas de transferência de oxigénio através dos diferentes vedantes apresentaram valores maiores no primeiro mês de conservação do que nos meses seguintes. Estes resultados comprovaram os anteriormente reportados por Ribéreau-Gayon, em 1933, que estimou a quantidade de oxigénio que se difunde através de diferentes vedantes, durante o tempo de conservação em posição horizontal. Comprovou-se que a maioria dos vedantes apresenta uma taxa de transferência de oxigénio entre 2 e 4 mg/L/mês, com exceção das rolhas Neutrocork®, que apresentaram uma OTR de 1,4 mg/L/mês, e dos vedantes Supremecorq®, que apresentaram uma OTR superior a 4 mg/L/mês. Por sua vez, a taxa de transmissão de oxigénio após o primeiro mês de conservação apresentou valores variados entre os diferentes vedantes analisados, mas todos inferiores aos valores do primeiro mês (Tabela 3).

Tabela 3 - Taxa de transmissão de oxigénio através de diferentes vedantes (Lopes *et al.*, 2005).

Vedante	1 mês (mg de O ₂ /L/mês)	2 - 12 meses (mg de O ₂ /L/mês)
Rolhas Técnicas		
Aglomeradas	2,5	0,01
Neutrocork®	1,4	0,10
Twin Top®	2,8	0,02
Rolhas de Cortiça Natural		
1ª Classe (Ø = 24 mm)	3,8	0,50
3ª Classe, colmatada	3,0	0,35
Vedantes Sintéticos		
Supremecorq®	4,3	1,50
Nomacorc®	3,6	0,85

Em 2007, Lopes *et al.*, realizou um novo estudo a fim de verificar quais as vias de entrada do oxigénio para o interior das garrafas de vinho (interface rolha-gargalo *versus* “corpo” do

vedante); este estudo demonstrou que nas rolhas técnicas e nas rolhas de cortiça natural a transferência ocorre por difusão, enquanto nos vedantes sintéticos o oxigénio atravessava o vedante por permeação.

Em 2010, Vidal *et al.*, realizou um estudo de transmissão de oxigénio por quimioluminescência, através de dois tipos de cápsulas de rosca, Saran Tin e Saranex, em soluções de água pura acidificada com ácido clorídrico a pH de 1,5, em duas condições de temperatura distintas (20 e 35 °C) durante 63 dias. A concentração total de O₂ permaneceu estável, em ambas as temperaturas, durante o tempo de conservação nas garrafas fechadas com as cápsulas Saran Tin, provando que não existiu nem consumo nem penetração de oxigénio (taxa de transmissão praticamente nula). Por sua vez, nas cápsulas Saranex, a concentração de oxigénio aumentou com o aumento da temperatura, obtendo-se valores de 2,6 e 4 µg/dia/garrafa para as temperaturas de 20 e 35 °C respetivamente.

A empresa Nomacorc®, pelo do método da quimioluminescência, determinou a entrada de oxigénio em garrafa após um ano de conservação através dos seus vedantes *Select Series* 700, 500, 300 e 100 obtendo valores de 2,1, 1,7, 1,1 e 1,1 mg de O₂ respetivamente (Nomacorc, 2014).

Tendo em conta a crescente preocupação com a quantidade de oxigénio em garrafa, o departamento de I&D da A&I dedicou-se à comparação do método já existente neste departamento, colorimetria, com o novo método de quimioluminescência, a fim de avaliar a transferência de oxigénio através de diferentes vedantes de vinho tranquilo e de espumante.

3 Descrição Técnica

Neste terceiro capítulo apresenta-se o trabalho laboratorial desenvolvido, expõem-se e explicitam-se as técnicas de medição pelos métodos da colorimétrica e de PreSens/quimioluminescência, assim como o modo como foram realizados todos os ensaios efetuados.

Ao longo deste projeto estudaram-se duas tecnologias de transmissão de oxigénio através de diferentes vedantes. No método da colorimetria continuou-se o estudo já desenvolvido anteriormente pelo departamento de I&D da A&I, enquanto para o método da quimioluminescência iniciou-se um estudo de transmissão de oxigénio em vinhos espumantes.

3.1 Estudo da transferência de oxigénio de rolhas para vinho tranquilo

3.1.1 Vedantes em estudo

Para o estudo da transmissão de oxigénio em garrafa, pelo método da colorimetria, utilizaram-se os vedantes apresentados na Figura 4:

- Rolhas Naturais - 45 x 24 mm;
- Rolhas Neutrocork® - 45 x 24 mm;
- Vedantes Nomaticorc® Select 300 - 44 x 23 mm.

As rolhas naturais e Neutrocork® foram obtidas na A&I; enquanto os vedantes Nomaticorc® Select 300 foram adquiridos à Korken & Schiesser (Áustria).

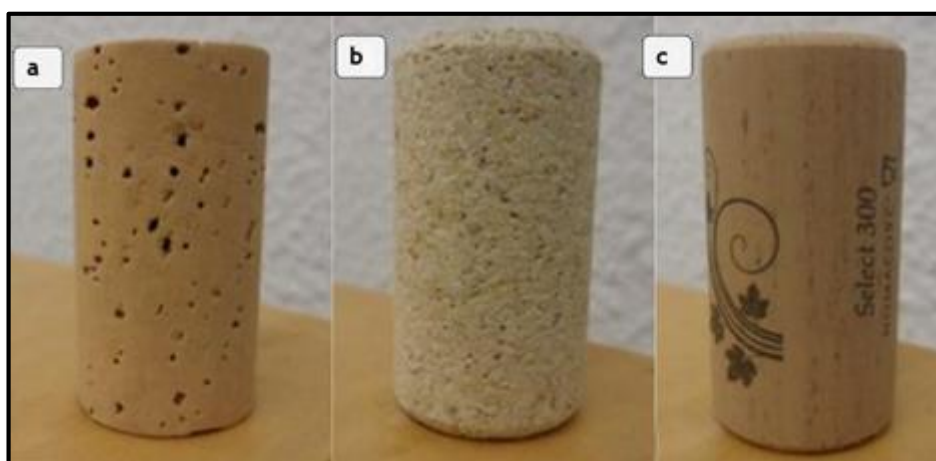


Figura 4 - Amostras em estudo: a) Rolha de cortiça natural, b) Rolha Neutrocork®, c) Vedante Nomaticorc® Select 300.

3.1.2 Garrafas

Neste projeto utilizaram-se 60 garrafas transparentes do tipo bordalesa, com um volume de 375 mL, cujo nível de enchimento é cerca de 62 mm a partir da entrada do gargalo. O perfil interno apresenta um diâmetro de 19,2 mm a 3 mm do topo da garrafa e 20 a 21 mm a 45 mm de profundidade.

3.1.3 Procedimento pelo método da colorimetria

O método colorimétrico, como foi já supracitado, baseia-se na mudança de cor proveniente das reações de oxidação/redução de um indicador, carmim de índigo (Figura 5). A partir destes sistemas de mudança de cor é possível estudar a cinética de entrada do oxigénio dentro da garrafa ao longo do tempo sem comprometer as propriedades do vedante (Lopes *et al.* 2005).



Figura 5 - Exemplo de garrafas para medição colorimétrica realçando o gradiente de cor.

As reações de redução do carmim de índigo pelo ditionato de sódio e da oxidação da solução reduzida de carmim de índigo pelo oxigénio atmosférico encontram-se descritas na Figura 6, em que a reação **A** representa a primeira fase, onde ocorre redução do carmim de índigo, passando a solução de azul para amarela e a reação **B** representa a oxidação do carmim de índigo (Lopes *et al.*, 2005).

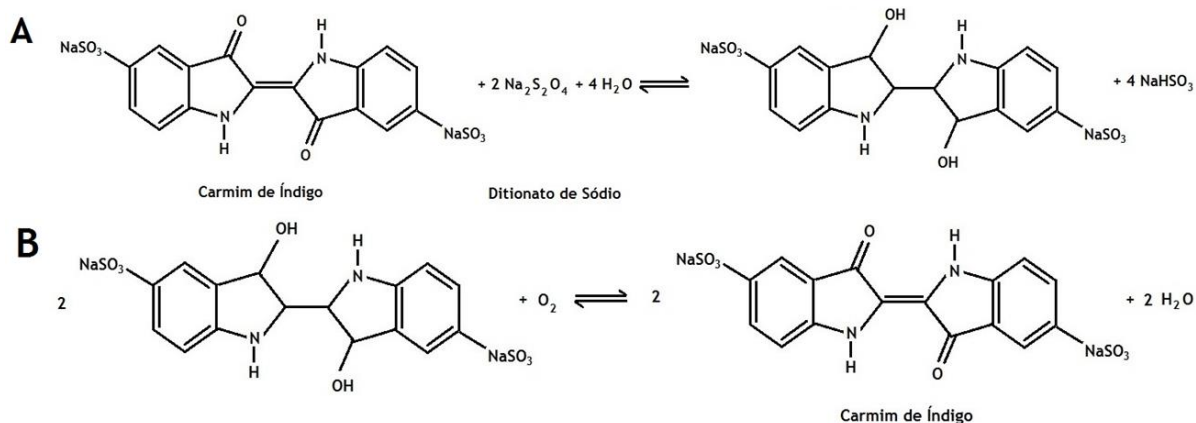


Figura 6 - A. Reação de redução do carmim de índigo pelo ditionato de sódio; B. Reoxidação do carmim de índigo reduzido pelo oxigênio atmosférico (Lopes *et al.*, 2005).

O equipamento usado para realizar as medições foi um colorímetro de Minolta series CM-508i, representado na Figura 7, onde a garrafa foi colocada no interior da caixa e sujeita a uma medição de espaço de cor (luminosidade, L*; saturação, a*; tonalidade, b*). Este espaço de cores, também chamado de CIELab, é um dos esquemas de medição mais usado atualmente e surgiu com o intuito de reduzir os erros encontrados nos espaços concorrentes.

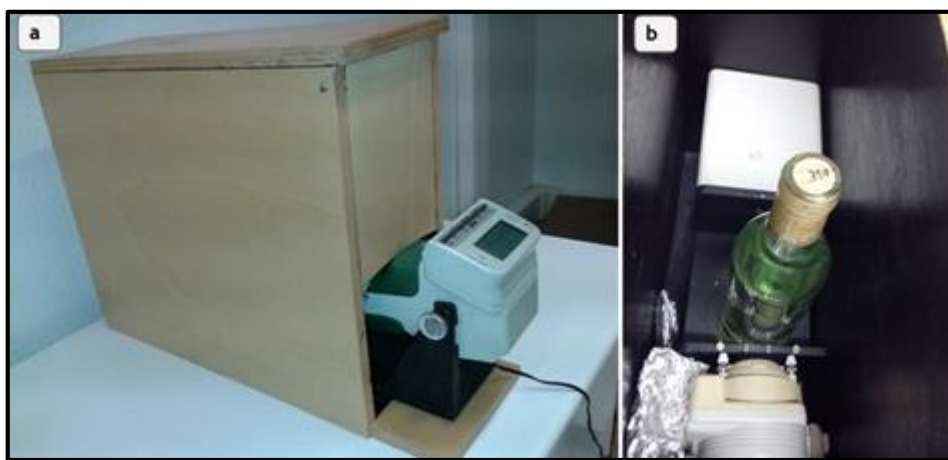


Figura 7 - a) Colorímetro; b) Garrafa colocada no interior do colorímetro.

▪ Calibração do método da colorimetria²

A calibração deste método está dividida em duas partes e efetuou-se utilizando uma garrafa de vidro diferente das convencionais garrafas de vinho, como se pode observar na Figura 8. Esta garrafa tem um volume de 375 mL e contém duas aberturas, as quais são tapadas com anéis de silicone com 5 mm de espessura.



Figura 8 - Garrafa de calibração usada no método colorimétrico.

Em primeiro lugar, procedeu-se à redução do carmim de índigo na garrafa de calibração (Figura 9). Encheu-se a garrafa com 350 mL de solução de carmim de índigo e fecharam-se as duas aberturas, seguindo-se a remoção do oxigénio do interior da garrafa com azoto puro durante 10 minutos, à pressão de 0,5 bar. Ao fim deste período de tempo, injetou-se uma solução de ditionato de sódio aquoso (80 mg em 20 mL de água desionizada) conduzindo à alteração de cor da solução de carmim de índigo, passando de azul de índigo a amarelo (cor da solução completamente reduzida). Após a redução do carmim de índigo submeteu-se a garrafa às medições de CIELab (L^* , a^* , b^*) em quatro pontos da garrafa em ângulos de 90° a fim de se obter um valor médio. As medições realizaram-se no escuro e à temperatura ambiente (Lopes *et al*, 2005).

² A calibração do método da colorimetria efetuou-se em Maio de 2013, data de início do desenvolvimento do projeto de estudo da transmissão de oxigénio através de diferentes vedantes, controlado pelo método de colorimetria, projeto realizado por Miguel Pereira na Tese de Mestrado 'Comparação de métodos para estudo da transmissão de oxigénio através de diferentes vedantes de vinho'.

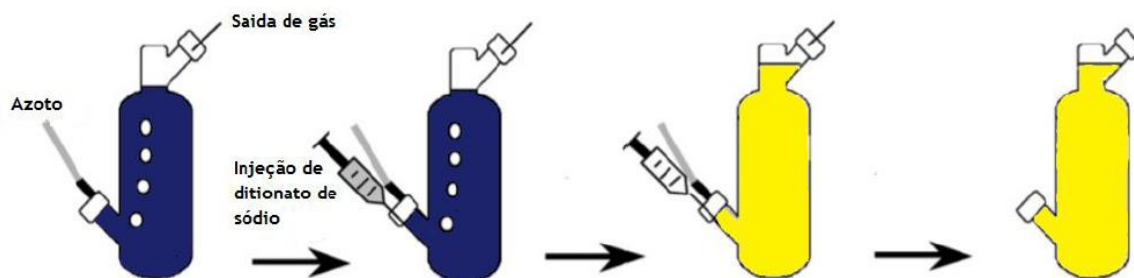


Figura 9 - Procedimento de redução do carmim de índigo (Lopes *et al.*, 2005).

Após realizada a redução, seguiu-se a calibração do carmim de índigo (Figura 10). Fizeram-se injeções de 0,7 mL de ar atmosférico (0,15 mL de oxigénio) a partir da abertura inferior de silicone da garrafa. Após a remoção da seringa e agulha, agitou-se vigorosamente à mão, a garrafa durante um minuto para homogeneizar a solução de carmim de índigo, seguindo-se um período de estabilização de 5 minutos, período após o qual se realizaram as medições de cor. Este procedimento repete-se o número de vezes necessário até a oxidação total do carmim de índigo, ou seja, quando a solução apresenta a sua cor azul de índigo inicial (Lopes *et al.*, 2005).

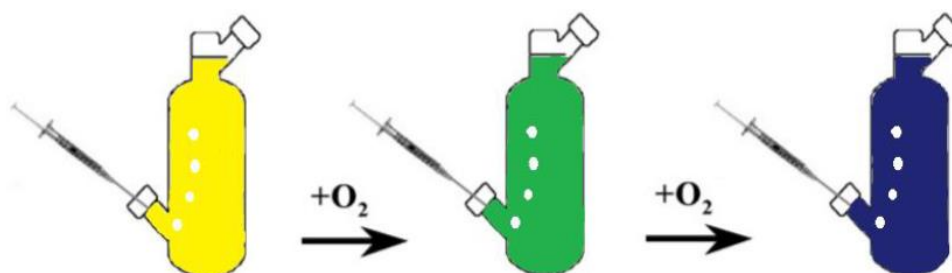


Figura 10 - Procedimento de oxidação do carmim de índigo (Lopes *et al.*, 2005).

▪ Engarrafamento e Conservação³

Prepararam-se 8 L de solução aquosa (água desionizada) com uma concentração de 250 mg/L de carmim de índigo (componente oxidante) e 5 g/L de benzoato de sódio (Lopes *et al.*, 2005). Desta solução mãe colocaram-se 350 mL dentro de cada uma das garrafas de vinho e, em seguida, efetuou-se o procedimento de redução semelhante ao realizado durante a calibração. Submeteu-se a solução engarrafada a uma corrente de azoto puro para remover

³ À semelhança da calibração, o engarrafamento efetuou-se em Maio de 2013, data de início do desenvolvimento do projeto de estudo da transmissão de oxigénio através de diferentes vedantes, controlado pelo método de colorimetria, projeto realizado por Miguel Pereira na Tese de Mestrado 'Comparação de métodos para estudo da transmissão de oxigénio através de diferentes vedantes de vinho'.

todo o oxigénio da garrafa durante 10 minutos, período após o qual injetaram-se 20 mL de solução de ditionato de sódio (80 mg) que permitiu a redução total daquela solução. Colocou-se a garrafa com a solução já reduzida na máquina de compressão/inserção industrial para engarrafamento da rolha no gargalo sob vácuo. Este último procedimento efetuou-se com a maior rapidez possível de forma a reduzir a exposição da solução ao ar atmosférico.

Neste ensaio inseriram-se 20 rolhas de vinho, sendo cinco delas vedantes Nomatic® Select 300, cinco rolhas Neutrocork® e dez rolhas de cortiça natural (analisou-se o dobro das rolhas de cortiça natural devido à sua heterogeneidade). A conservação de todas as garrafas efetuou-se em posição vertical e à temperatura ambiente durante 250 dias.

As medições da transmissão de oxigénio através dos diferentes vedantes, foram efetuadas sempre no mesmo local à temperatura e humidade ambiente.

Na análise pelo método colorimétrico consideraram-se apenas os valores da luminosidade, L^* , uma vez que é através destes que se obtém uma relação entre a quantidade de oxigénio presente na solução e a cor da mesma. O valor final de L^* é uma média aritmética dos quatros valores obtidos das rotações de 90° em cada garrafa, medida na posição vertical.

3.1.4 Procedimento pelo método da quimioluminescência

O método da quimioluminescência baseia-se numa técnica de análise que utiliza sensores óticos que permitem quantificar a entrada de oxigénio, de forma não-destrutiva e não-invasiva, sob condições de pressão e temperatura normais e durante um longo período de tempo. O equipamento para medição de quimioluminescência utilizado nestas medições foi o Fibox 3 LCD - trace, Figura 11.



Figura 11 - Medidor de quimioluminescência: a) fibra ótica; b) sensor de temperatura; c) equipamento; d) entrada dos sensores.

O princípio de medição deste método é baseado no efeito da dinâmica de excitação de luminescência pelo oxigénio molecular (Figura 12).

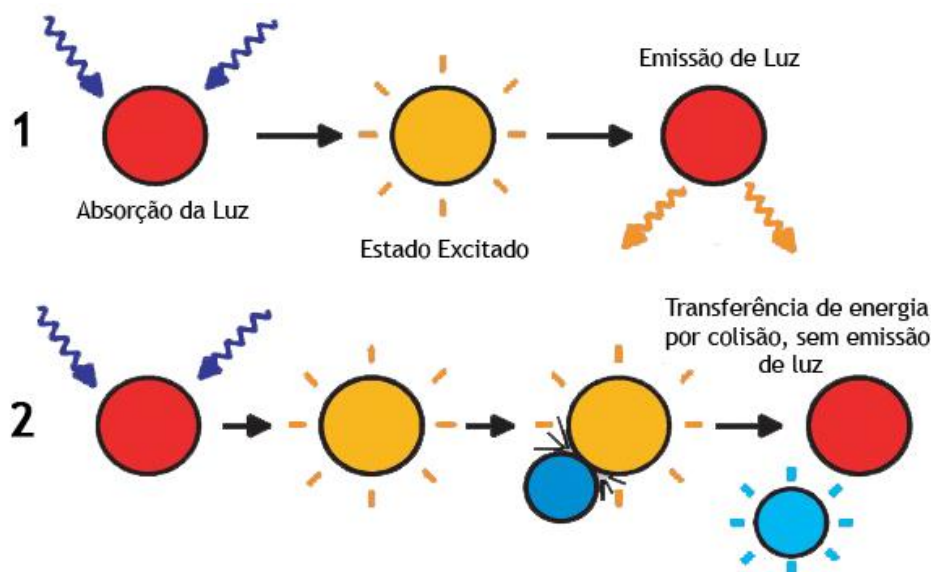


Figura 12 - Princípio da dinâmica de excitação de luminescência pelo oxigénio molecular: 1) Processo de luminescência na ausência de luz; 2) Desativação da molécula indicadora de luminescência pelo oxigénio molecular (adaptado de Huber *et al.*, 2006).

A colisão entre a luz emitida pela fibra ótica no seu estado excitado e o oxigénio resulta numa desativação na ausência de radiação, chamada de dinâmica de excitação. Durante a colisão, a transferência de energia ocorre da molécula de indicador excitado para o oxigénio que, consequentemente, é transferido do seu estado fundamental (estado de tripleto) para o seu estado de singleto excitado. Como resultado, a molécula de indicador não emite luz e o total de sinal luminescente mensurável diminui (Huber *et al.*, 2006).

O medidor de oxigénio utiliza uma fonte luminosa azul-esverdeada para provocar a excitação molecular do oxigénio, esta luz apresenta uma frequência de 4,5 kHz para iluminar o sensor. Uma fibra de polímero ótico é usada como sinal transdutor e conduz a emissão de luz. Um sensor é colado na parede interior da garrafa e a fibra ótica posiciona-se na sua parede exterior (Figura 13). Desta forma, é possível quantificar a concentração de oxigénio no interior da garrafa fechada através de uma medição passiva e não-invasiva, uma vez que não é necessário perfurar a garrafa, não se interferindo com o seu conteúdo e não se consumindo oxigénio.

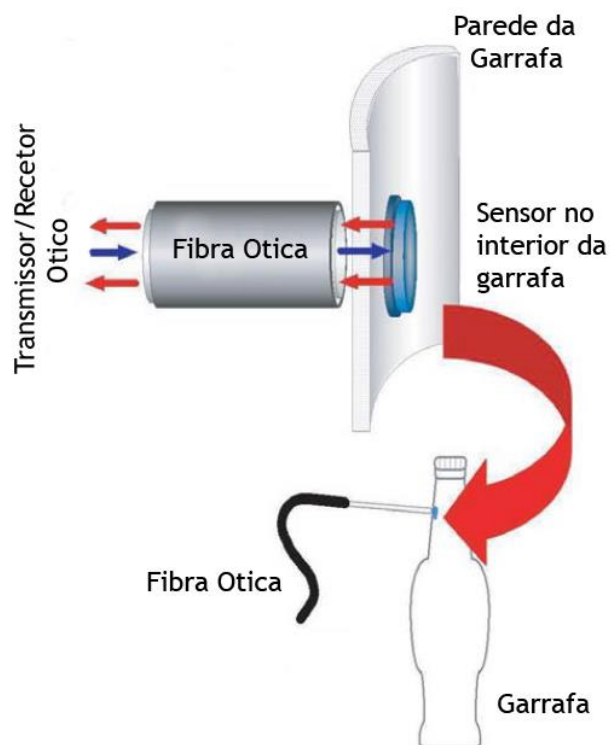


Figura 13 - Esquema da medição por quimioluminescência (adaptado de Huber *et al.*, 2006).

Os sensores óticos medem tanto na fase líquida como na fase gasosa (*headspace*), através de materiais transparentes até uma espessura de 10 mm e até mesmo através de recipientes turvos. Os níveis de oxigênio gasoso e dissolvido podem ser detetados em intervalos de partes por milhão (ppm) a partes por bilhão (ppb) para determinar a permeabilidade do vedante (Huber *et al.*, 2006).

O estudo da quantificação da transferência de oxigênio, através de diferentes vedantes, pelo método da quimioluminescência efetuou-se em dois ensaios distintos: i) ensaio com garrafas de vinho tranquilo vazias e com solução ácida e ii) ensaio com garrafas de champanhe. As garrafas e vedantes utilizados nos ensaios com garrafas vazias e com solução ácida foram os mesmos utilizados no método colorimétrico. Os sensores utilizados neste projeto foram pastilhas do tipo PSt6, com pressão atmosférica de 973 hPa. Nos Anexos 1 e 2 encontram-se, os dados para a calibração destes sensores e as suas características e propriedades respetivamente.

3.1.4.1 Ensaio com garrafas vazias⁴

As garrafas vazias com um sensor PSt6 previamente colado, no interior da garrafa, a 100 mm do topo do gargalo foram submetidas a um procedimento de remoção de oxigénio durante 10 minutos com uma corrente de azoto puro, período após o qual cada rolha foi inserida na garrafa sob vácuo (Figura 14). Neste ensaio engarrafaram-se 20 garrafas: cinco com vedantes Nomatic® Select 300, cinco com rolhas Neutrocork® e dez com rolhas de cortiça natural.

3.1.4.2 Ensaio com solução ácida⁴

Neste ensaio prepararam-se 8 L de solução aquosa de ácido clorídrico, HCl, com um pH de 1,56 (Vidal *et al.*, 2010). Colocaram-se 370 mL desta solução nas garrafas com dois sensores pré-instalados: um a 53 mm do topo do gargalo, para medir o oxigénio no *headspace* (HS), e outro a 100 mm do topo do gargalo para medir o oxigénio dissolvido (OD) (Figura 14).



Figura 14 - Garrafas vazias (à esquerda) e com solução ácida (à direita): a) vedante Nomatic®; b) rolha Neutrocork®; c) rolha de cortiça natural.

⁴ A preparação do ensaio com garrafas vazias e com garrafas com solução ácida efetuou-se em Maio de 2013, data de início do desenvolvimento do projeto de estudo da transmissão de oxigénio através de diferentes vedantes, controlado pelo método da quimioluminescência, projeto realizado por Miguel Pereira na Tese de Mestrado '*Comparação de métodos para estudo da transmissão de oxigénio através de diferentes vedantes de vinho*'.

Em seguida submeteram-se estas garrafas a um procedimento semelhante ao do método da colorimetria, isto é remoção do oxigénio durante 10 minutos com uma corrente de azoto puro, período após o qual cada rolha foi inserida na garrafa sob vácuo. No total engarrafaram-se 20 garrafas com cinco vedantes Nomacorc® Select 300, cinco rolhas Neutrocork® e dez rolhas de cortiça natural.

A conservação das garrafas de ambos os ensaios fez-se em posição vertical e à temperatura ambiente durante 250 dias.

3.2 Estudo da transferência de oxigénio de rolhas de vinho espumante

3.2.1 Otimização do estudo de transmissão de oxigénio em garrafa para vinhos efervescentes

Inicialmente o estudo da transmissão de oxigénio foi programado apenas para vinhos espumantes, porém, posteriormente, alargou-se o estudo a vinhos efervescentes, de modo a abranger um maior leque de pressões no interior da garrafa, uma vez que o tipo de vedante e garrafa varia de acordo com o seu conteúdo.

Tendo por base um estudo realizado em 2010, por Bunner *et al*, onde se testou o método da quimioluminescência para garrafas de vinho espumante sob pressão, de forma a alcançar as condições físico-químicas do champanhe, procurou-se adaptar o mesmo no laboratório da empresa A&I. No estudo supracitado, as garrafas de champanhe, contendo uma solução aquosa de ácido clorídrico, eram colocadas sob pressão interna pela adição de um tubo de ensaio com bicarbonato de sódio no interior da garrafa, momentos antes do seu engarrafamento. A reação entre os dois elementos liberta dióxido de carbono o que permite atingir uma pressão significativa no interior da garrafa. Pretendia-se obter inicialmente um pH de 1 de forma a alcançar uma solução final com pH de 6 e uma pressão no interior da garrafa de 8 bar, a 20 °C.

Desta forma, desenvolveu-se um estudo de otimização de transmissão de oxigénio em garrafa não só para vinhos espumantes, mas para diversos vinhos efervescentes. Uma vez que as quantidades de bicarbonato de sódio necessárias a adicionar, assim como a concentração inicial de ácido na solução aquosa eram desconhecidas, fizeram-se vários ensaios onde se alternavam estas variáveis a fim de se obterem diferentes pressões (Tabela 4).

Tabela 4 - Otimização da pressão em garrafa para vinhos efervescentes.

Pressão Final (bar)	Concentração em Ácido	pH Inicial	Massa Bicarbonato de Sódio (g)	pH Final
0,8	0,33%	1,5	8,68	7,2
2	1,00%	1,1	22,08	7,1
3	1,40%	1,2	19,82	6,9
4,1	1,80%	0,9	28,41	6,9
5	2,33%	0,78	34,51	6,9
6	2,53%	0,77	33,01	6,9
6,9	2,67%	0,76	34,84	6,7

O controlo da quantidade de bicarbonato de sódio a adicionar à solução ácida, fez-se com a ajuda de um medidor de pH, tendo por base a concentração inicial de ácido clorídrico a 37% adicionada a 1 L de água, sabendo que o pH final da solução seria neutro (pH próximo 7). A falta de proporcionalidade entre as quantidades de bicarbonato de sódio a adicionar deve-se ao facto dos valores de pH final não serem todos exatamente 7 e, por conseguinte, não aumentarem progressivamente. Para cada ensaio de pressão preparou-se uma garrafa com cada uma das diferentes quantidades de reagentes. A partir destes dados é assim possível obter as quantidades necessárias a adicionar para volumes diferentes de 1 L. Todos os valores obtidos podem ser observados em maior detalhe no Anexo 3.

3.2.1.1 Vedantes em estudo

Apesar da otimização do estudo de transmissão de oxigénio em garrafa para vinhos efervescentes, neste projeto apenas se realizaram ensaios para os vinhos espumantes (pressão final de 7 bar). Assim, utilizaram-se as seguintes rolhas (Figura 15):

- Rolha SparkTopOne (Um Disco) - 48 x 30 mm
- Rolha Microaglomerada Mytik Diamant- 48 x 31 mm
- Rolha Spark (Dois Discos) - 48 x 31 mm

As rolhas com discos foram obtidas e tratadas na Champcork; enquanto, as rolhas Mytik foram enviadas pela Amorim France, já tratadas, que as obteve junto de um utilizador destas rolhas, *Coopérative du Syndicat Général des Vignerons* (CSGV).

Antes de serem utilizadas, todas as rolhas foram previamente colocadas num saco fechado hermeticamente com dióxido de enxofre (SO₂) durante cerca de 4 dias. Este procedimento

teve por objetivo reduzir tanto quanto possível a carga microbiana das rolhas, uma vez que o dióxido de enxofre atua como um gás inibidor de desenvolvimento microbiológico.

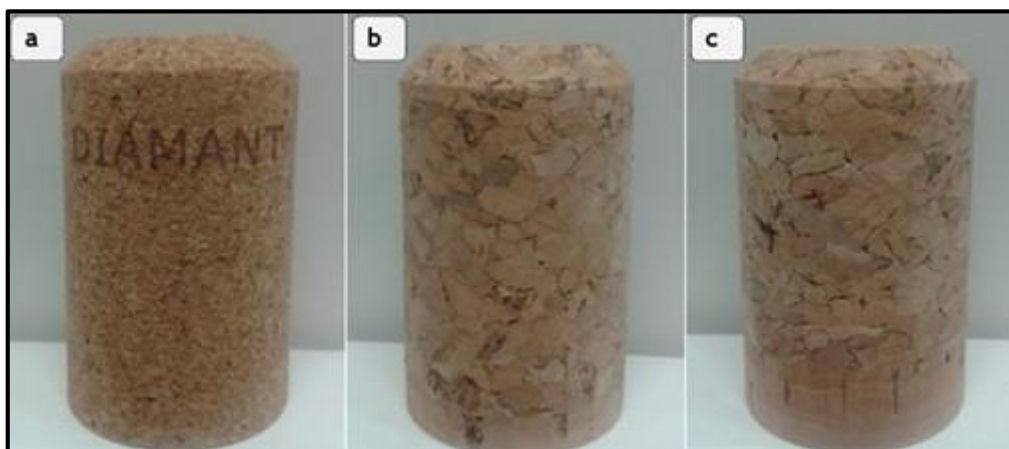


Figura 15 - Amostras em estudo: a) Rolha microaglomerada Mytik Diamant, b) Rolha SparkTopOne (um disco), c) Rolha Spark (dois discos).

3.2.1.2 Garrafas

Na Figura 16 apresenta-se uma das 13 garrafas usadas neste projeto, são garrafas de champanhe transparentes com um volume de 750 mL, fornecidas pela Sogrape Vinhos, S.A., cujo perfil do gargalo está representado no Anexo 4.



Figura 16 - a) Garrafa de champanhe utilizada no projeto e respetivo gargalo (b).

3.2.1.3 Tipo de sensor

Os sensores utilizados neste projeto foram pastilhas do tipo PSt6, com pressão atmosférica de 973 hPa. Em cada garrafa colocaram-se duas pastilhas, uma no *headspace*, a 3,5 cm, a partir da entrada do gargalo, e outra próxima do centro da garrafa, a 10 cm acima da base da garrafa. Nos Anexos 1 e 2 encontram-se, respectivamente, os dados para a calibração destes sensores, bem como as características e propriedades dos mesmos.

3.2.1.4 Preparação da solução

Foram feitos 10 litros de solução aquosa de ácido clorídrico, em balões volumétricos de 2 L cada. Em cada um dos recipientes foram dissolvidos, em água destilada, 40 mL de HCl concentrado 37%. O pH da solução foi de 0,76.

3.2.1.5 Engarrafamento e conservação

O engarrafamento realizou-se a 24 de Outubro de 2013 na Champcork.

Transportaram-se 26 garrafas do Departamento de I&D da A&I, 13 com 725 mL da solução ácida de HCl e as 13 restantes vazias (com os sensores colados), tendo sido colocado, no interior de cada uma, um tubo de ensaio com 26,13 g de bicarbonato de sódio, NaHCO_3 (Figura 17).

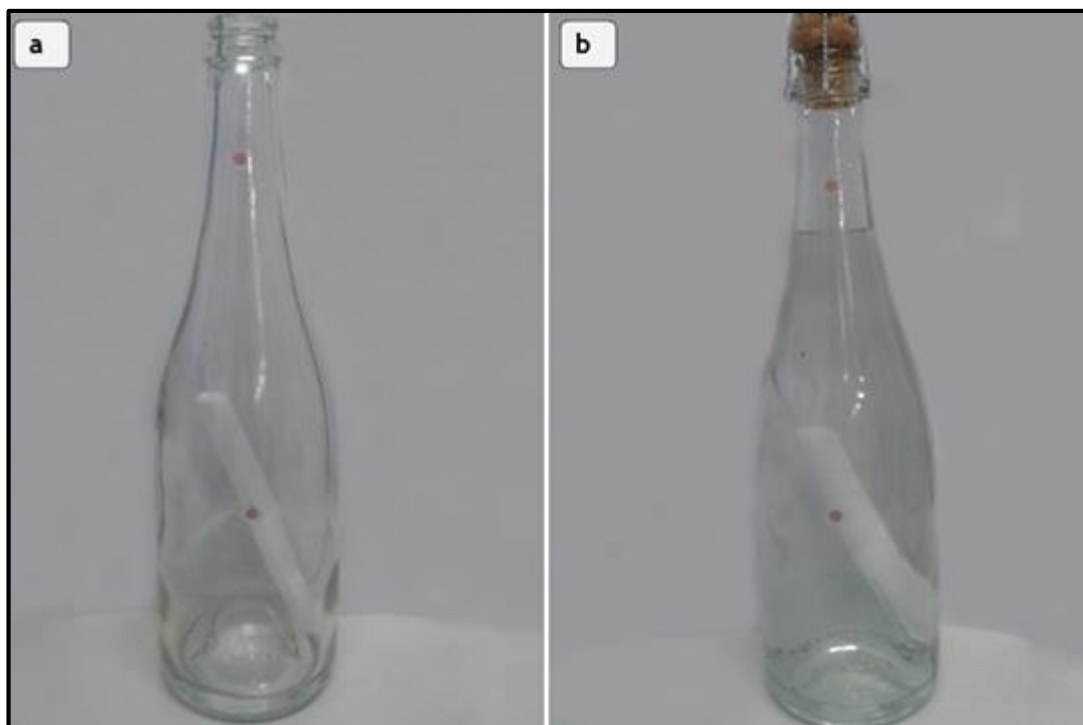
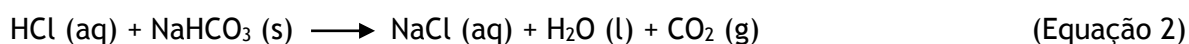
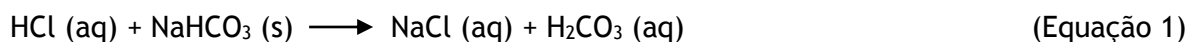


Figura 17 - Garrafa de champanhe utilizada no projeto com os sensores e o tubo de ensaio com NaHCO_3 no interior: a) antes do engarrafamento; b) após o engarrafamento.

O bicarbonato de sódio é utilizado para, com a sua dissolução no ácido, libertar dióxido de carbono que equivalerá ao borbulhar dos vinhos espumantes. Na Equação 1 apresenta-se a reação química existente entre o ácido clorídrico e o bicarbonato de sódio, uma vez que o ácido carbónico é muito volátil e instável, decompõe-se rapidamente, dando assim origem ao dióxido de carbono pretendido (Equação 2).



Numa primeira fase, em cada garrafa, o oxigénio foi excluído da solução ácida através de uma corrente de azoto, durante 10 minutos (Figura 18), período após o qual a garrafa foi imediatamente tapada com uma rolha capsulada de plástico.

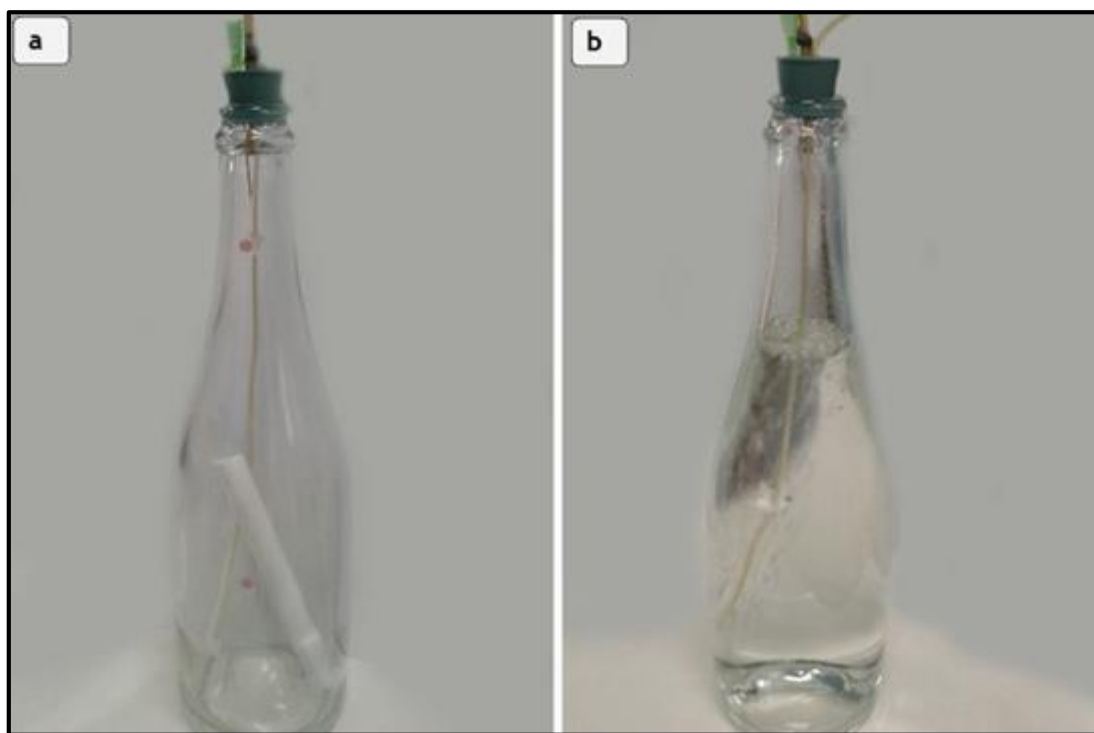


Figura 18 - Exemplo de extração do oxigénio no interior da garrafa por corrente de azoto: a) numa garrafa vazia; b) numa garrafa com solução ácida.

Em seguida, utilizou-se o mesmo procedimento na garrafa vazia, controlando-se a quantidade de oxigénio presente no interior da mesma, com o medidor de quimioluminescência da Fibox 3 LCD - trace; este procedimento foi realizado até ao momento em que se atingiu um nível de oxigénio inferior a 1 hPa. Atingido este valor, verteu-se o conteúdo da garrafa com a solução ácida na garrafa vazia e procedeu-se ao engarrafamento, na máquina de compressão/inserção (Figura 19). Inicialmente a rolha é inserida em cada garrafa a 24 mm de profundidade, com

uma compressão de 16,5 mm, e, em seguida, é colocado o *muselet* sobre a rolha, de forma evitar que esta emirja devido à pressão no interior da garrafa.



Figura 19 - Máquina de compressão/inserção.

Após o engarrafamento segue-se a medição do oxigénio dissolvido e do oxigénio presente no *headspace* da garrafa, pelo método da quimioluminescência. Por último, reveste-se a garrafa em folha de alumínio para proteger os sensores da luz.

Seguiu-se o mesmo procedimento para todas as garrafas. No total foram engarrafadas quatro garrafas com rolhas SparkTopOne, cinco com rolhas Spark e as restantes quatro garrafas com rolhas microaglomeradas Mytik Diamant. Utilizou-se uma rolha Spark a mais do que as restantes, dado que estas rolhas possuem dois discos enquanto as SparkTopOne apenas têm um disco e, por conseguinte, apresentam uma maior variabilidade.

As garrafas foram conservadas em posição vertical nos primeiros cinco dias e, posteriormente, em posição horizontal. A conservação foi realizada sob condições de temperatura e humidade ambiente.

As garrafas (Figura 20) foram submetidas a análises periódicas de medição do oxigénio dissolvido e no *headspace* por quimioluminescência durante o período de conservação de 90 dias.



Figura 20 - Garrafas de espumantes vedadas com diferentes rolhas analisadas durante o projeto.

Na análise pelo método da quimioluminescência, mede-se a quantidade de oxigénio dissolvido em ppm ou ppb, no sensor colocado no corpo da garrafa, ou seja, em contacto com a solução. Os sensores colocados no gargalo da garrafa medem a quantidade de oxigénio presente no *headspace* da garrafa, em hectopascal (hPa) sendo posteriormente convertidos para miligramas, pela equação dos gases perfeitos, considerando a temperatura ambiente aquando do momento da medição.

3.3 Comparação dos métodos para os diferentes tipos de vedantes

Todos os resultados obtidos nestes estudos foram tratados num programa de estatística XLSTAT Versão 2013.6.03 que está acoplado ao *Microsoft Office Excel*, através de análises de variância (ANOVA) e testes de comparação múltipla (Teste de Fisher).

4 Discussão de Resultados

Ao longo deste projeto estudaram-se duas tecnologias de transmissão de oxigénio através de diferentes vedantes. No estudo do vinho tranquilo continuou-se o trabalho iniciado anteriormente no departamento de I&D da A&I pelo método colorimétrico e da quimioluminescência, no caso do vinho espumante iniciou-se um novo estudo de otimização de transmissão de oxigénio em garrafa para diferentes vedantes. Assim, neste capítulo expõem-se os resultados obtidos em cada ensaio, assim como a sua discussão e comparação com a literatura existente. Divide-se em dois subcapítulos, um referente à comparação do método colorimétrico com o método da quimioluminescência para vinhos tranquilos e outro referente ao método da quimioluminescência aplicada a vinhos espumantes.

4.1 Estudo da transferência de oxigénio de rolhas para vinho tranquilo

4.1.1.1 Vedantes Nomacorc®

A transmissão de oxigénio dos vedantes Nomacorc®, após oito meses de conservação, foi significativamente diferente segundo o método utilizado ($p < 0,001$) (Figura 21). Observou-se que para estes vedantes os valores obtidos por colorimetria são superiores aos valores obtidos pelo método da quimioluminescência. Estas diferenças ocorreram sobretudo durante os primeiros cinco dias (Figura 22), onde claramente a transmissão de oxigénio dada pelo método colorimétrico foi bastante superior aos valores dados pelos métodos baseados na técnica da quimioluminescência. Estas observações resultam do facto do método colorimétrico não ter muita precisão nos primeiros dias de conservação uma vez que o redutor é adicionado em excesso; assim numa primeira fase o oxigénio que entra na garrafa é consumido pelo excesso de ditionato de sódio não levando à alteração de cor da solução. Ao contrário, os métodos utilizando a quimioluminescência conseguem, desde o início, determinar com precisão os níveis de oxigénio nas garrafas. Além disso, no caso do método das garrafas vazias (PreSens GV), a eliminação do oxigénio durante o engarrafamento é muito mais efetiva uma vez que o vácuo consegue eliminar eficazmente todo o ar que estava dentro das garrafas.

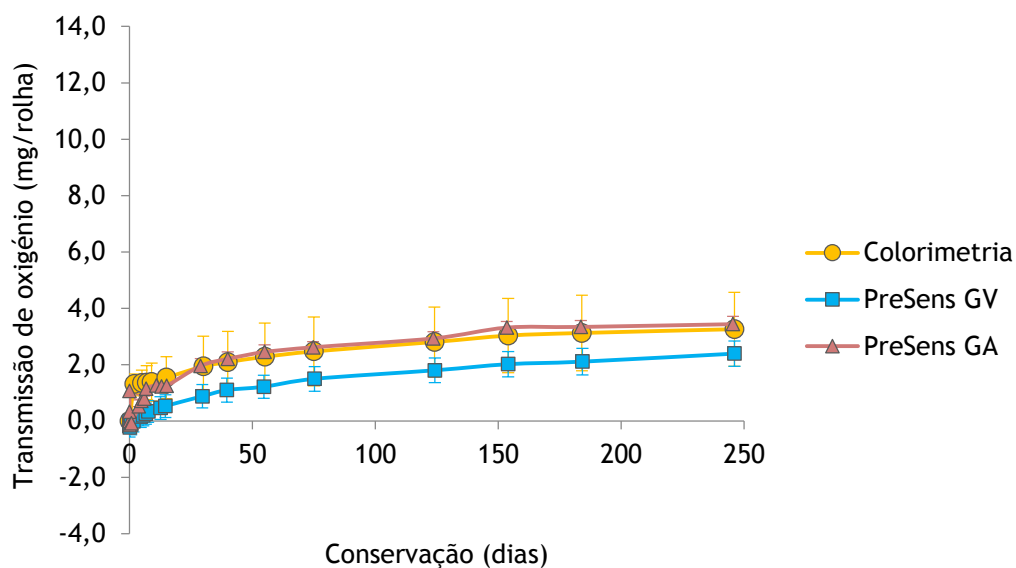


Figura 21 - Cinética de transmissão de oxigênio através de vedantes Nomacorc® determinada por diferentes métodos.

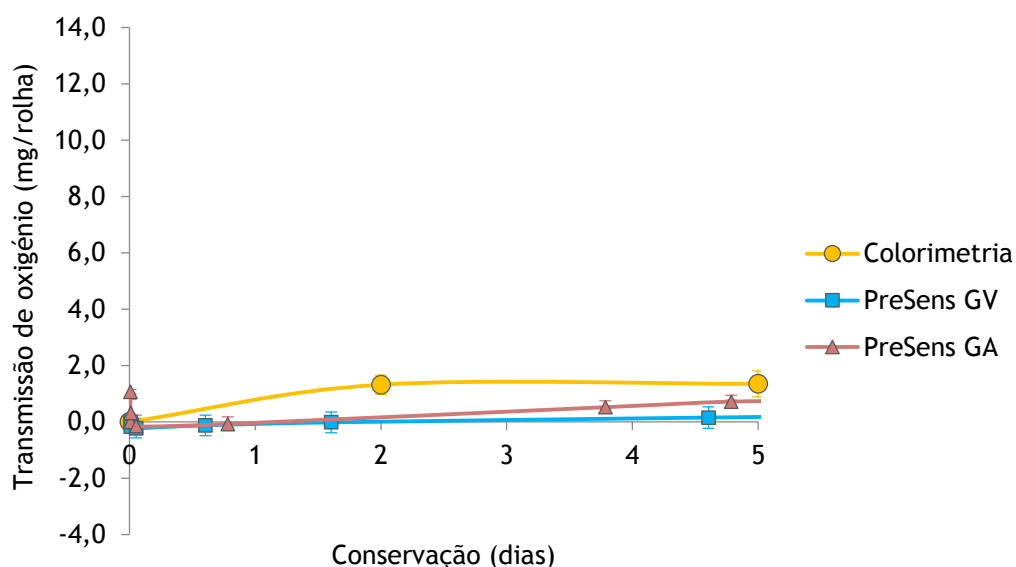


Figura 22 - Cinética de transmissão de oxigênio através de vedantes Nomacorc® determinada por diferentes métodos, nos primeiros 5 dias de conservação.

Após este período inicial (5 dias), observou-se que as taxas de transmissão de oxigênio dos vedantes Nomacorc® (Figura 23) apresentam diferenças significativas entre todos os métodos. Considerando o período de conservação após o 30º dia verifica-se que os métodos da colorimetria e das garrafas vazias por quimioluminescência são semelhantes; contudo, significativamente superiores aos resultados obtidos pelo método da quimioluminescência das garrafas contendo solução ácida (PreSens GA). Estas diferenças devem-se ao efeito da entrada

de oxigénio aquando do engarrafamento que ainda se fazem sentir no primeiro mês de análise no método da colorimetria.

Comparando os valores obtidos com os publicados na literatura conclui-se que neste projeto obtiveram-se valores ligeiramente mais elevados. A empresa Nomacorc® apresenta valores de 0,0049 mg de O₂ num período entre três e seis meses (Nomacorc, 2014), enquanto neste trabalho se obteve 0,0056 mg de O₂ no mesmo período de tempo, pelo método da quimioluminescência para garrafas vazias.

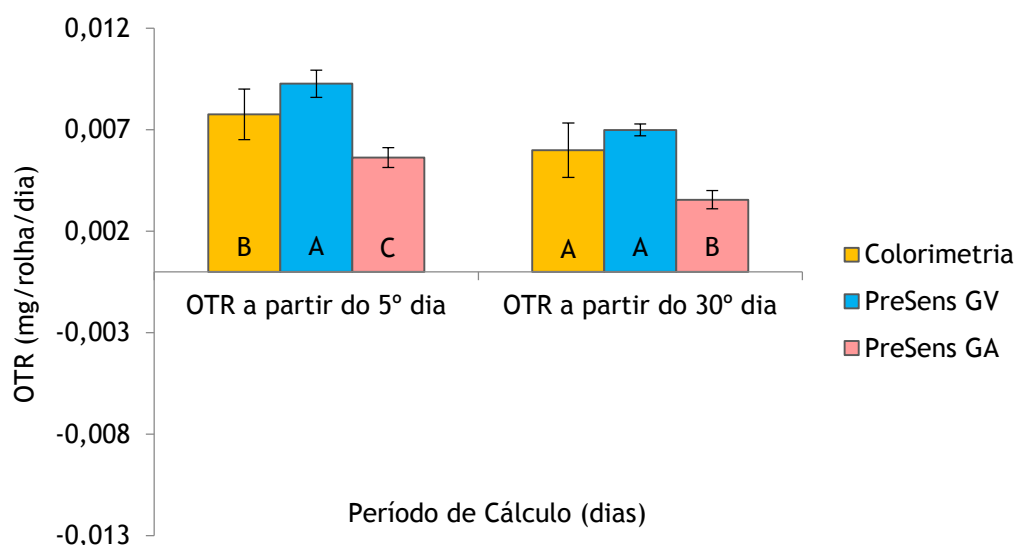


Figura 23 - Taxas de transmissão de oxigénio de vedantes Nomacorc® determinadas por diferentes métodos (as mesmas letras dentro de cada gama de OTR indicam a inexistência de diferenças estatisticamente significativas)⁵.

4.1.1.2 Rolhas Neutrocork®

Relativamente à transmissão de oxigénio de rolhas Neutrocork®, ao fim de oito meses também se observaram diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes métodos ($p < 0,001$) (Figura 24), principalmente entre o método da colorimetria onde se obtêm valores inferiores aos obtidos pelo método da quimioluminescência. Estas diferenças ocorreram durante os primeiros 5 dias (Figura 25), onde claramente a transmissão de oxigénio dada pelo método colorimétrico foi superior àquela dada pelos métodos da quimioluminescência, tal como observado anteriormente para os vedantes Nomacorc®. Observou-se que a transmissão de oxigénio obtida através do método das garrafas com solução ácida, a partir do décimo dia,

⁵ A OTR é calculada pelo quociente entre o oxigénio presente normalizado (retira-se o valor inicial) e o período de tempo em análise.

começa a diminuir ao longo tempo, uma vez que se subtrai o valor inicial, atingindo valores negativos. Este resultado mostra que o valor de oxigénio vai sendo consumido pela solução e a partir de um certo momento é mesmo inferior ao nível de oxigénio detetado inicialmente. As razões pela qual a solução consome oxigénio são desconhecidas; contudo, observou-se na parte inferior da rolha uma acumulação de precipitados e tecidos que parecem ser de microrganismos que eventualmente poderiam ter consumido o oxigénio e assim impedido a sua acumulação. Deste facto, resultaram taxas de transmissão de oxigénio negativas após o 5º dia.

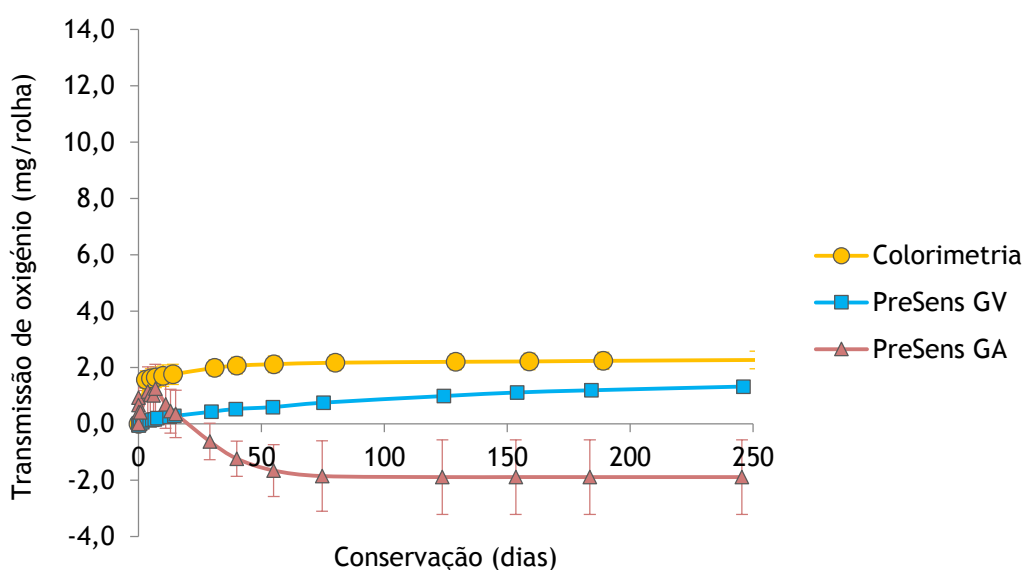


Figura 24 - Cinética de transmissão de oxigénio através de rolhas Neutrocork® determinada por diferentes métodos.

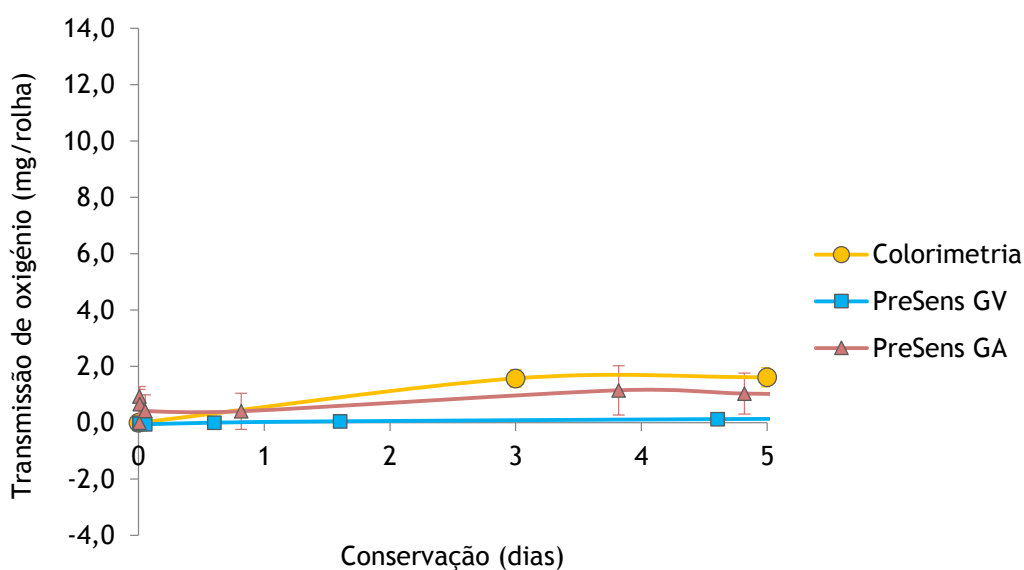


Figura 25 - Cinética de transmissão de oxigénio através de rolhas Neutrocork® determinada por diferentes métodos, nos primeiros 5 dias de conservação.

Relativamente aos outros métodos, após o período inicial, observou-se que as taxas de transmissão de oxigênio das rolhas Neutrocork® utilizando o método colorimétrico foram em média inferiores aos valores obtidos com o método das garrafas vazias por quimioluminescência. Contudo, estas diferenças não foram estatisticamente significativas se considerarmos o período de medição após o 5º dia (Figura 26), porém se considerarmos o período de medição após o 30º dia de conservação o mesmo não se verifica e existem diferenças significativas entre todos os métodos. Observou-se também que as taxas de transmissão de oxigênio obtidas pelo método da quimioluminescência em garrafas vazias tendem a diminuir ao longo do tempo, e o mesmo acontece pelo método colorimétrico, uma vez que se verifica a tendência para uma estabilização. Todos estes resultados parecem evidenciar que a presença e/ou interação de líquido no interior da garrafa com a rolha condiciona a sua transmissão de oxigênio.

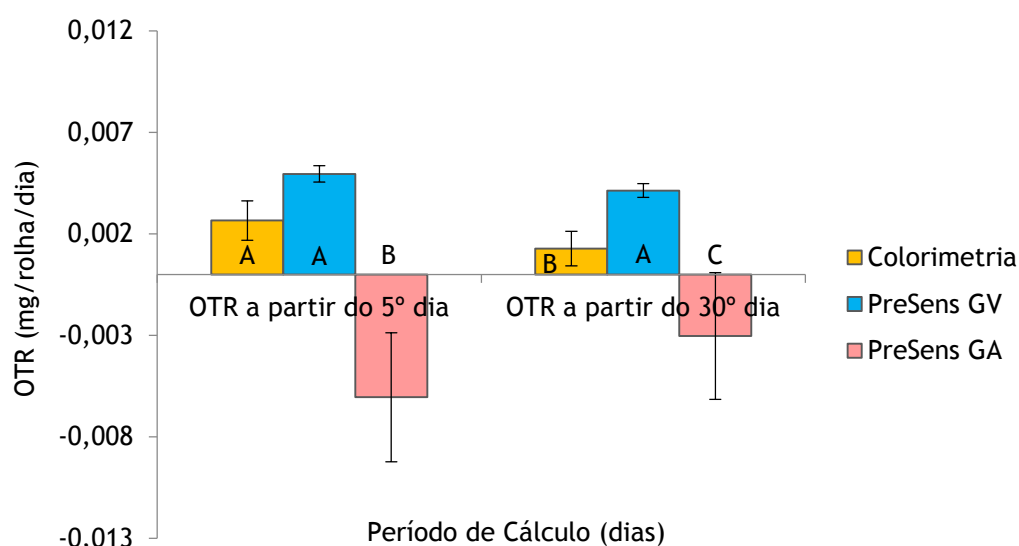


Figura 26 - Cinética de transmissão de oxigênio através de rolhas Neutrocork® determinada por diferentes métodos (as mesmas letras dentro de cada gama de OTR indicam a inexistência de diferenças estatisticamente significativas).

Comparando os valores obtidos com os publicados na literatura conclui-se que neste projeto se obtiveram valores iguais. Lopes *et al.*, em 2005, apresentou valores de 0,10 mg de O₂/L/mês num período entre dois e doze meses, assim como neste trabalho, utilizando o método da colorimetria.

4.1.1.3 Rolhas de cortiça natural

Em relação à transmissão de oxigénio de rolhas de cortiça natural, ao fim de oito meses, também foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os métodos ($p < 0,001$) (Figura 27). Neste caso, os valores obtidos pelo método da quimioluminescência em garrafas vazias foram muito superiores aos obtidos para garrafas com solução ácida e também pelo método colorimétrico. Estas diferenças ocorreram durante os primeiros 5 dias (Figura 28), onde claramente o valor da transmissão de oxigénio obtido pelo método colorimétrico é superior ao obtido pelo método da quimioluminescência, tal como observado anteriormente para os outros vedantes. Verificou-se que a transmissão de oxigénio obtida através do método das garrafas com solução ácida (tal como verificado com o Neutrocork®) começa a diminuir ao longo tempo atingindo valores negativos. Este resultado confirma que o oxigénio vai sendo consumido pela solução; a partir de um certo momento é mesmo inferior ao nível de oxigénio detetado inicialmente. Tal como verificado com as rolhas Neutrocork®, as garrafas com rolhas de cortiça natural apresentaram um precipitado/camada de microrganismos que poderia ter consumido o oxigénio e assim impedido a sua acumulação no interior da garrafa.

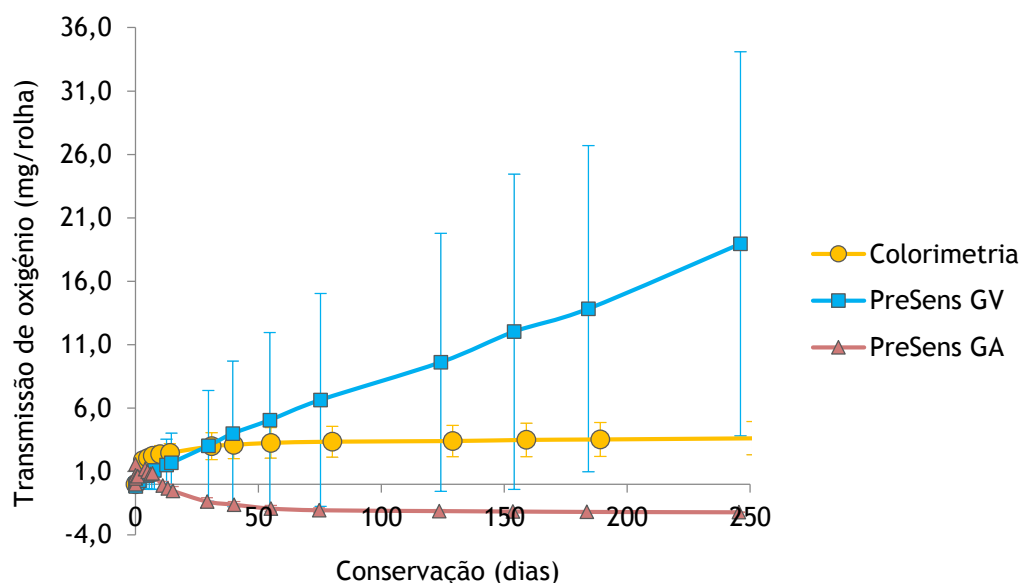


Figura 27 - Cinética de transmissão de oxigénio através de rolhas de cortiça natural determinada por diferentes métodos.

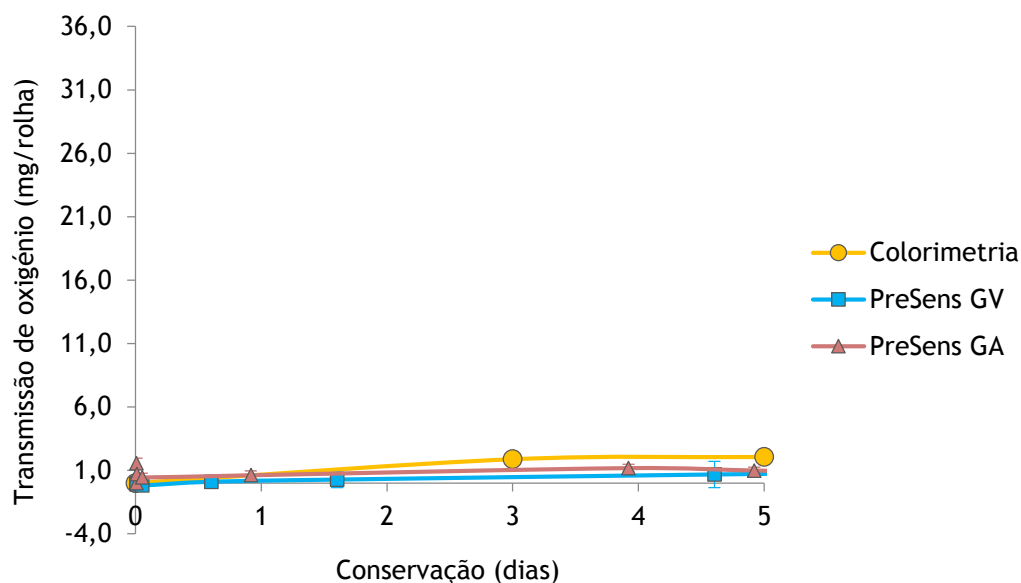


Figura 28 - Cinética de transmissão de oxigênio através de rolhas de cortiça natural determinada por diferentes métodos, nos primeiros 5 dias de conservação.

Após o 5º dia, observou-se que as taxas de transmissão de oxigênio das rolhas de cortiça natural utilizando o método da colorimetria é significativamente inferior aos valores obtidos com o método das garrafas vazias por quimioluminescência, existindo diferenças estatisticamente significativas entre o método das garrafas vazias por quimioluminescência e os outros dois; o mesmo acontece se considerarmos o período de análise após o 30º dia (Figura 29). Contudo se retirarmos os quatro valores de transmissão de oxigênio mais elevados (*outliers*) (Figura 30) após o 5º dia observa-se a inexistência de diferenças significativas de transmissão de oxigênio entre o método colorimétrico e o método das garrafas vazias por quimioluminescência, embora as taxas de transmissão de oxigênio por este último sejam sempre superiores às obtidas pelo método da colorimetria. Se considerarmos o período de análise após o 30º dia, sem os *outliers*, apenas existirão diferenças significativas entre os métodos da quimioluminescência.

Com o método baseado na quimioluminescência a transmissão parece ser linear e contínua, o que contraria os resultados obtidos pelo método de colorimetria. Estes resultados confirmam claramente aqueles observados com as rolhas Neutrocork® em que a presença de líquido no interior da garrafa afeta a transmissão de oxigênio das rolhas (a presença de *outliers*, que parecem não vedar corretamente, apenas no método por quimioluminescência das garrafas vazias, parece suportar esta teoria). Um método de medição de oxigênio a seco (como o método da quimioluminescência das garrafas vazias) parece expor todas as fragilidades de vedação das rolhas de cortiça natural quando não existe um líquido que parece minimizar esses efeitos. Neste caso, esta conclusão é mais difícil de retirar pois a heterogeneidade das rolhas naturais é muito grande e assim impossibilita uma comparação efetiva de métodos.

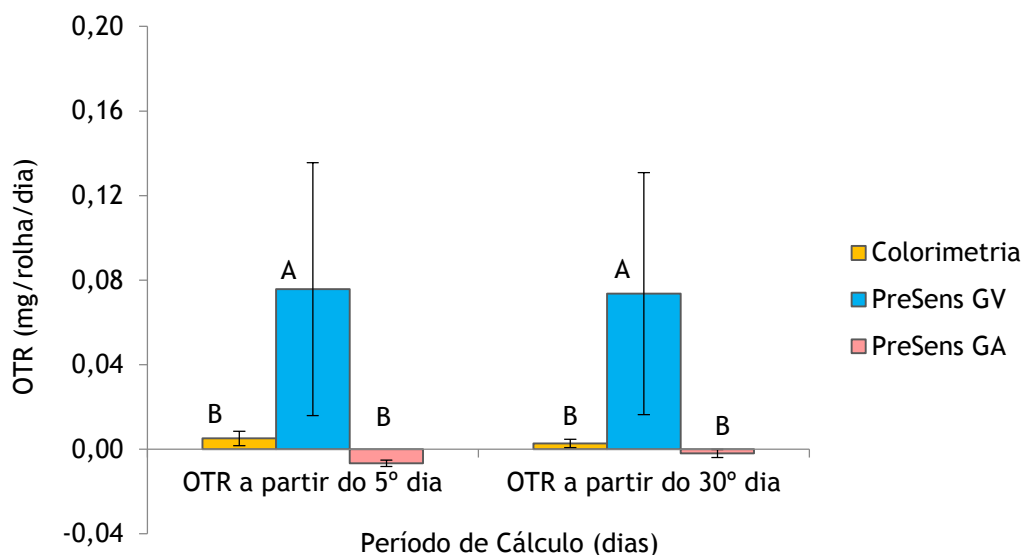


Figura 29 - Cinética de transmissão de oxigênio através de rolhas de cortiça natural, não considerando os *outliers* determinada por diferentes métodos (as mesmas letras dentro de cada gama de OTR indicam a inexistência de diferenças estatisticamente significativas).

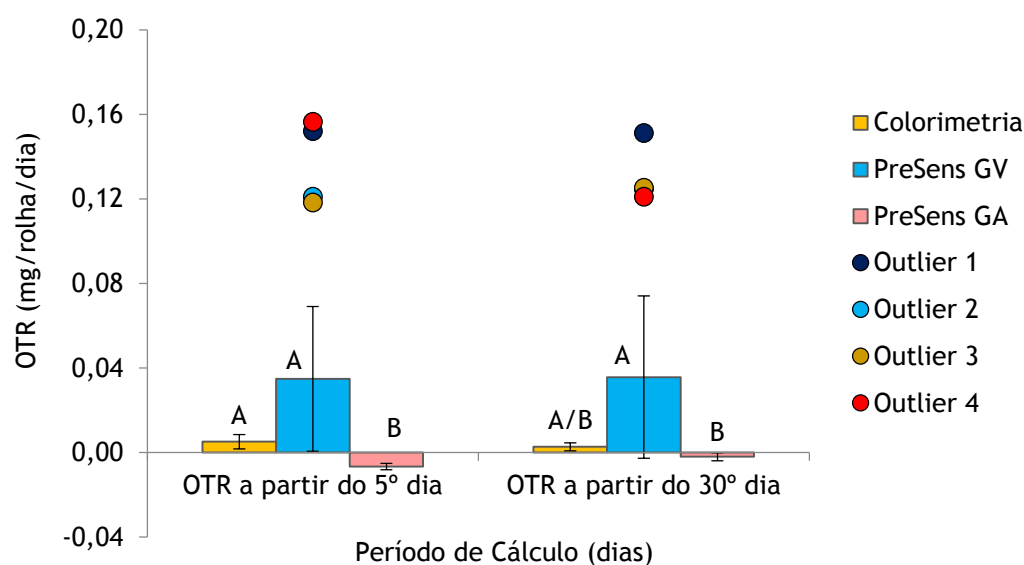


Figura 30 - Cinética de transmissão de oxigênio através de rolhas de cortiça natural, considerando os *outliers* determinada por diferentes métodos (as mesmas letras dentro de cada gama de OTR indicam a inexistência de diferenças estatisticamente significativas).

Comparando os valores obtidos com os publicados na literatura conclui-se que neste projeto se obtiveram valores muito inferiores. Lopes *et al.*, em 2005, apresentou valores de 0,50 mg de O₂/L/mês num período entre dois e doze meses, enquanto neste trabalho se obteve 0,03 mg de O₂/L/mês no mesmo período de tempo, pelo método da colorimetria.

4.2 Estudo da transferência de oxigênio de rolhas de vinho espumante

O estudo da transferência de oxigênio de rolhas de vinho espumante fez-se pelo método da quimioluminescência, utilizando-se três vedantes diferentes. Nesta análise estudou-se a taxa de transmissão de oxigênio, a quantidade de oxigênio presente no *headspace* da garrafa e o oxigênio dissolvido na solução ácida.

Na Figura 31 estão representados os valores de transferência de oxigênio das diferentes rolhas. Ao fim de três meses os valores mais elevados foram observados nas rolhas de dois discos, atingindo os 1,63 mg de O₂/rolha, enquanto as rolhas Microaglomeradas Mytik Diamant e as SparkTopOne (um disco) apresentam respetivamente 1,39 e 1,03 mg de O₂/rolha, estes são valores normalizados dado que no momento zero já existia uma certa quantidade de oxigênio na garrafa. Ao fim dos três meses de análise, apesar de existirem ligeiras diferenças entre as rolhas com um disco e as rolhas com dois discos (apresentam maior variabilidade, pois devido ao disco extra liberta mais oxigênio), considera-se que estas diferenças não são estatisticamente significativas ($p = 0,05$).

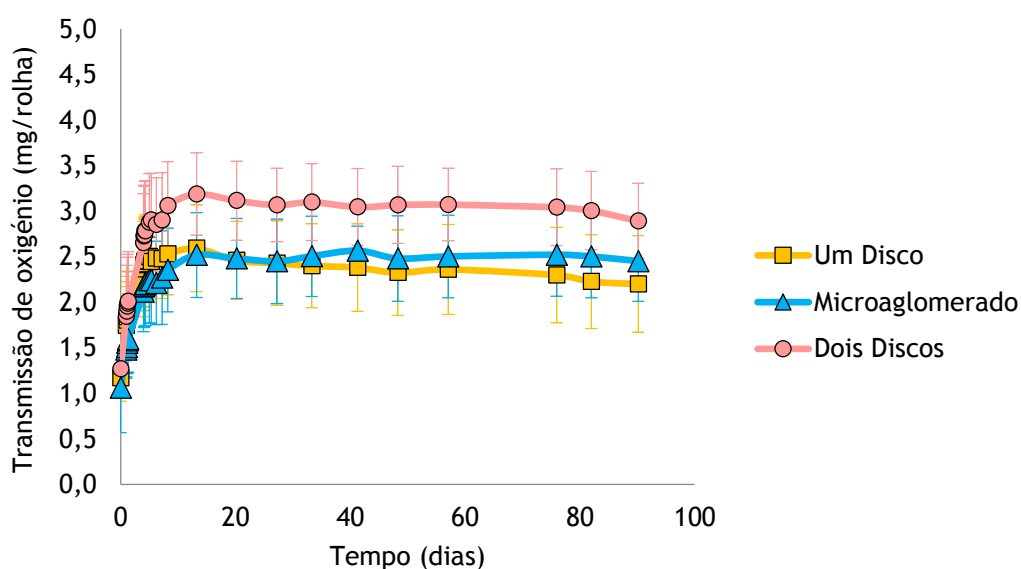


Figura 31 - Cinética de transmissão de oxigênio através de rolhas de vinho espumante.

A quantidade de oxigênio presente no *headspace* da garrafa (Figura 32) apresenta um pico inicial elevado, uma vez que, aquando do engarrafamento, a rolha ao ser inserida na garrafa impele o oxigênio para dentro desta. A partir do 8º dia de conservação a quantidade de oxigênio diminui, uma vez que parte deste começa a dissolver-se na solução e inicia-se o processo de estabilização.

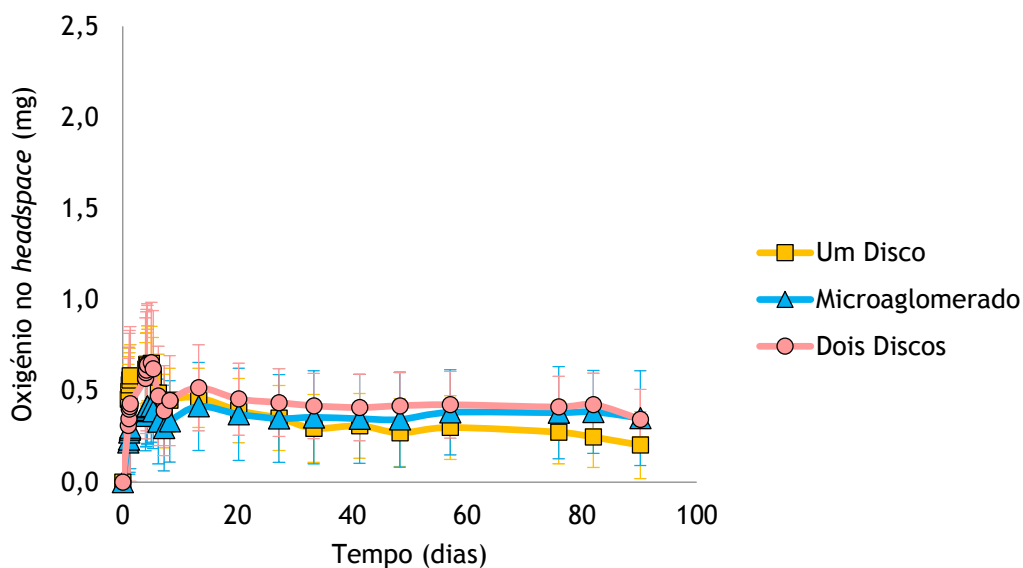


Figura 32 - Evolução do oxigénio no *headspace* da garrafa.

Analogamente, nos primeiros 8 dias de conservação, a quantidade de oxigénio dissolvido aumenta exponencialmente, devido à inserção da rolha, seguindo-se um período de estabilização (Figura 33).

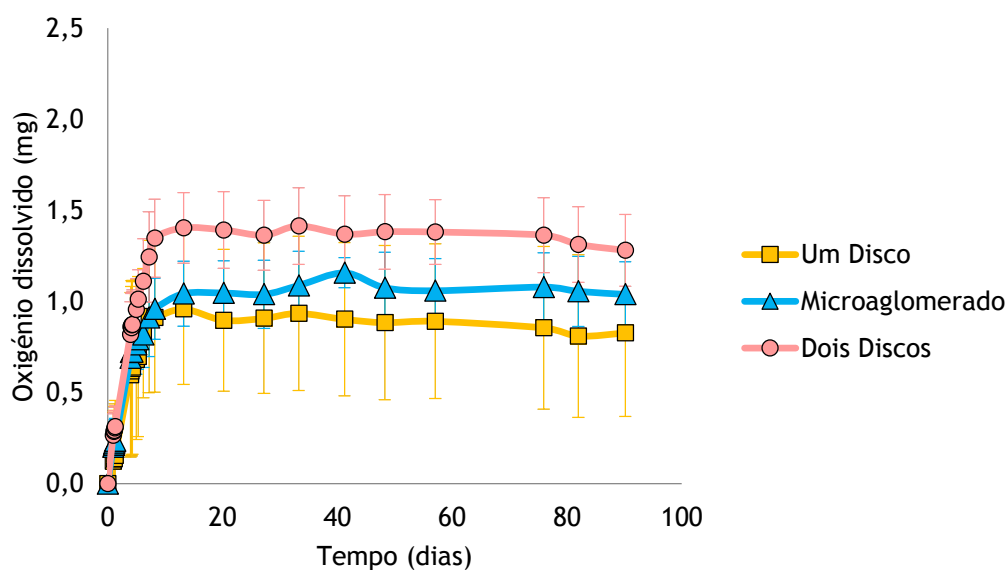


Figura 33 - Evolução no oxigénio dissolvido da garrafa.

As taxas de transferência de oxigénio vão diminuindo ao longo do tempo de análise (Figura 34) atingindo valores na vizinhança de 0 mg/rolha por dia o que indica que a transmissão de oxigénio está a estabilizar, sendo as diferenças devidas ao oxigénio presente no *headspace* que se começa a dissolver na solução. Estatisticamente não há diferenças significativas entre os diferentes tipos de rolha se consideremos o período a partir do 33º dia ($p > 0,05$); porém,

se for considerado o período de tempo a partir do 8º dia, observam-se diferenças significativas entre as rolhas microaglomeradas e as rolhas com um disco, sendo isto consequência do impacto que se faz sentir nos primeiros 8 dias devido à inserção da rolha na garrafa.

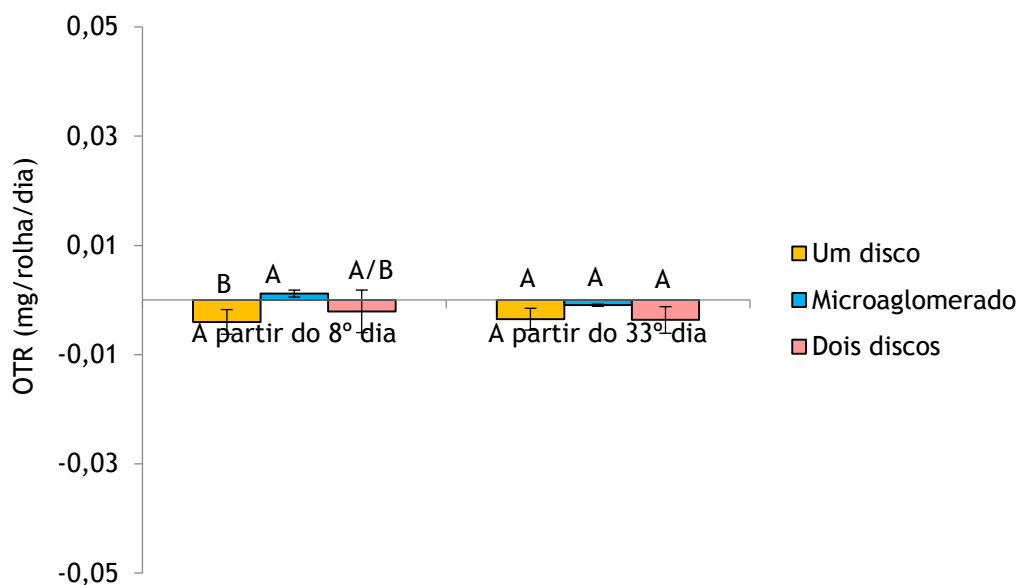


Figura 34 - Cinética de transmissão de oxigênio através de rolhas para vinho espumante (as mesmas letras dentro de cada gama de OTR indicam a inexistência de diferenças estatisticamente significativas).

Comparando os valores obtidos (Figura 31) com os publicados por Bunner *et al.* (Figura 35) para as rolhas de dois discos e microaglomerado observa-se que os resultados são semelhantes. Neste projeto os valores de OTR obtidos para as rolhas Spark (dois discos) e Microaglomeradas ao fim de três meses foram 3,03 e 3,38 mg/L respectivamente, enquanto no estudo de Bunner *et al.* obtêm-se cerca de 4,2 e 3,8 mg/L. Observa-se que neste projeto a transmissão de oxigênio começou a estabilizar cerca dos 10 dias de análise, enquanto no estudo publicado tal só acontece perto dos 50 dias, considerando que ambos apresentam a mesma quantidade de inicial de oxigênio, tal poderá dever-se a diferenças no engarrafamento.

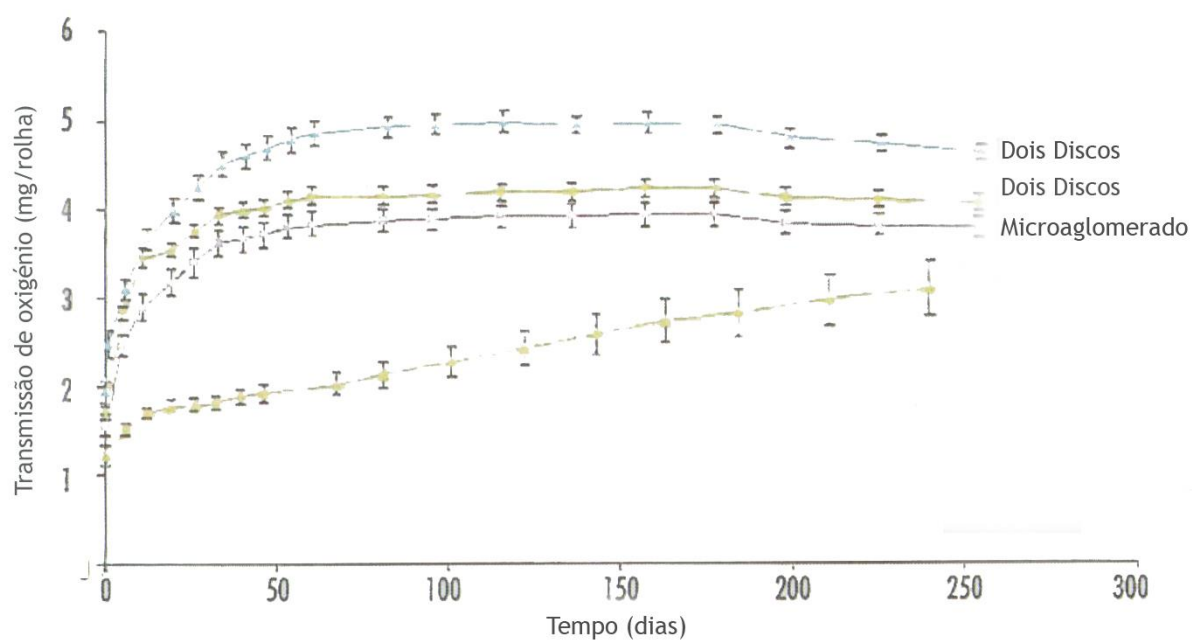


Figura 35 - Cinética de transmissão de oxigênio através de diferentes vedantes (Bunner *et al.*, 2010).

Fazendo uma analogia entre as rolhas de espumante e as rolhas de vinho tranquilo, conclui-se que ambas têm uma performance semelhante, sendo rolhas relativamente herméticas que libertam apenas uma pequena quantidade de oxigênio da sua estrutura.

5 Conclusões

Através da comparação dos métodos utilizados para a quantificação da transferência de oxigénio de rolhas para vinho tranquilo, observou-se que existem diferenças significativas de transmissão de oxigénio segundo o método utilizado. O método colorimétrico apresenta, em média, os menores valores de transmissão de oxigénio, principalmente nas rolhas naturais e Neutrocork®, comparativamente aos obtidos pelo método da quimioluminescência em que as garrafas estão vazias (medição a seco). O método que utiliza a quimioluminescência em garrafas com solução aquosa ácida não parece ser apropriado para medição de transmissão de oxigénio de rolhas, pois a solução, as rolhas ou conjugação das duas levaram ao consumo de oxigénio na garrafa impedindo a sua acumulação, uma vez que a solução interage com a rolha afetando a sua performance.

Este projeto permitiu otimizar um método para a medição da transferência de oxigénio em rolhas de vinhos efervescentes, onde foram estabelecidas as condições necessárias para a obtenção de uma gama de 0,8 a 6,9 bar de pressão interna da garrafa, cobrindo assim vários vinhos efervescentes desde espumantes, vinhos frisantes, cerveja e águas com gás.

Aplicando esta otimização às rolhas de champanhe através do método da quimioluminescência verifica-se que as maiores diferenças ocorrem nos primeiros oito dias, devido ao impacto do engarrafamento e da libertação de diferentes quantidades de oxigénio segundo o tipo de rolha. Após este período inicial é atingida uma estabilização sendo a entrada de oxigénio praticamente residual e idêntica em todos os tipos de rolhas utilizadas.

6 Avaliação do Trabalho Realizado

6.1 Objetivos Realizados

O objetivo deste projeto consistia no estudo de métodos de análise da cinética de entrada de oxigénio em garrafa de vinho tranquilo e espumante através de diferentes vedantes, pelos métodos de colorimetria e de quimioluminescência. Após cinco meses de trabalho conclui-se que este objetivo foi realizado eficazmente, tendo-se provado as diferenças existentes entre os métodos colorimétrico e da quimioluminescência para os vedantes de vinho tranquilo. A otimização do estudo de transmissão de oxigénio em garrafa para vinhos efervescentes pelo método da quimioluminescência mostrou-se eficiente, tendo sido possível a partir deste determinar algumas diferenças na transmissão de oxigénio de diferentes rolhas de vinho espumante.

6.2 Outros Trabalhos Realizados

Apesar do tema do projeto serem os métodos de análise da cinética de entrada de oxigénio em garrafa através do método da quimioluminescência em vinho tranquilo e espumante, durante o tempo passado no Departamento de I&D acompanharam-se outros projetos em desenvolvimento.

Como supracitado, para além do controlo do oxigénio por quimioluminescência, continuou-se também o trabalho iniciado anteriormente do controlo de oxigénio por colorimetria, apenas em vinho tranquilo. Outros trabalhos em curso no I&D referentes tanto à colorimetria como à quimioluminescência foram também acompanhados.

Um dos trabalhos acompanhado durante os cinco meses de estágio académico foi o do controlo de TCA que é feito diariamente no Departamento de I&D. Todos os dias são rececionadas cerca de 600 a 700 amostras oriundas de outras unidades industriais da empresa. O procedimento de trabalho inclui desde a lavagem e etiquetagem dos frascos, à preparação da amostra a colocar no cromatógrafo (adição de cloreto de sódio, amostra e padrão interno), para ser analisada pelo método combinado de microextração de fase sólida por exposição no *headspace* (SPME) com cromatografia gasosa (GC) através dos detetor de captura eletrónica (ECD) ou de espectroscopia de massa (MS), finalizando pela quantificação da concentração de TCA em cada amostra, obtida do respetivo cromatograma. Dentro da temática do TCA acompanharam-se também a maceração de diversas amostras de rolhas de cortiça e a preparação de análises sensoriais.

6.3 Limitações e Trabalho Futuro

As principais limitações do projeto foram do foro temporal e económico. O tempo e o número de amostras em análise é um fator limitante para que possa haver comparação de métodos e resultados de forma mais precisa. Devido ao tempo de espera para a chegada dos reagentes, necessários à realização do projeto, o tempo de análise às garrafas de vinho espumante ficou reduzido a três meses, o que é um período de tempo curto no qual se retiram apenas resultados parciais. O fator económico foi também um limitante ao projeto, uma vez que os sensores utilizados no método da quimioluminescência são dispendiosos e como tal reduziu-se o número de garrafas em análise.

Como trabalho futuro seria importante alargar o projeto não só a vinhos espumantes, mas a todos os vinhos efervescentes, uma vez que o tipo de garrafa e vedante varia de acordo com o conteúdo inserido. Já foi iniciado o estudo às garrafas de cerveja, encontrando-se o perfil do seu gargalo no Anexo 5. Outro fator a ter em consideração é o engarrafamento, uma vez que mesmo com todo o cuidado tomado, verifica-se que este tem uma grande influência nos resultados finais, pois é um dos principais responsáveis pela entrada de oxigénio em garrafa.

6.4 Apreciação final

O projeto desenvolvido foi importante e positivo, uma vez que possibilitou um primeiro contacto com o ambiente de trabalho profissional, sendo um meio de introdução às funções que um engenheiro químico poderá desempenhar no futuro.

No que toca ao tema do projeto, foi um trabalho interessante, que abrangeu uma temática importante no mundo da cortiça e que permitiu um trabalho prático laboratorial ativo e enriquecedor, onde se obtiveram os primeiros resultados referentes ao estudo da transmissão de oxigénio de rolhas de vinho espumante.

7 Referências

- António Rios de Amorim. Grupo Amorim - Mensagem do Presidente. Obtido em 16 de Setembro de 2013 de: www.amorim.com/cor_mensagem.php
- AmorimCork. Catálogo de Rolhas. Obtido em 19 de Setembro de 2013 de: www.amorimcork.com/pt/products/catalogue/
- APCOR. *Manual Técnico - Rolhas*. (2011). Obtido em 17 de Setembro de 2013 de: www.apcor.pt/userfiles/File/Publicacoes/Manual_Rolhas_PT.pdf
- APCOR. *Anuário APCOR*. (2012). (30-40). Obtido em 16 de Setembro de 2013 de: www.apcor.pt/userfiles/File/Publicacoes/AnuarioAPCOR2012.pdf
- Bates, J. (2010). *A corking argument*. The IWSR Drinks Record June. (27-29)
- Bunner, D., Landrieux, A., Valade, M., Langlerson, E., Tribaut-Sohier, I., Moncomble, D., Viaux, L., Walter, L., Chaperon, V., Gouez, B. (2010). *La mesure de l'oxygène par chimiluminescence*. Le Vigneron Champenois. (84-101)
- Circuitiverdi. Vedantes Sintéticos (Nomacorc®). Obtido em 19 de Setembro de 2013 de: www.circuitiverdi.it/blog/2013/04/24/da-nomacorc-arriva-il-tappo-di-sughero-bio/
- Cork Information Bureau. *Qualidade*. (2010). (11-12). Obtido em 17 de Setembro de 2013 de: <http://apcor.pt/userfiles/File/Qualidade.pdf>
- Corticeira Amorim. *Relatório e Contas*. (2012). Obtido em 16 de Setembro de 2013 de: www.amorim.com/xms/files/CorticeiraAmorim/Relatorio_e_Contas/Corticeira_Amorim_-_R_C_2012.pdf
- Diéval, J.-B., Vidal, S., Aagaard, O. (2011). *Measurement of the oxygen transmission rate of co-extruded wine bottle closures using a luminescence-based technique*. Journal: Packaging Technology and Science. (375-385)
- Diytrade. Cápsulas de Rosca. Obtido em 19 de Setembro de 2013 de: www.diytrade.com/china/pd/3105629/grape_wine_caps_bottle_caps_screw_caps.html
- Fortes, M., Rosa, M., & Pereira, H. (2004). *A cortiça*. Lisboa: IST Press. (12-56)
- Huber, Ch., Nguyen, T.A., Krause, Ch., Humele, H., Stangelmayer, A. (2006). *Oxygen Ingress Measurement into PET Bottles using Optical-Chemical Sensor Technology*. Monatsschrift für Brauwissenschaft. (5-15)

- Karbowiak, T., Gougeon, R., Alinc, J.-B., Brachais, L., Debeaufort, F., Voilley, A., Chassagne, D. (2010). *Wine oxidation and role of cork*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. (20-52)
- Kilmartin, P. (2009). *The Oxidation of Red and White Wines and its Impact on Wine Aroma*. Chemistry in New Zealand Journal - New Zealand Institute of Chemistry. (18-22)
- Lopes, P., Saucier, C., & Glories, Y. (2005). *Nondestructive colorimetric method to determine the oxygen diffusion rate through closures used in winemaking*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. (6967-6973).
- Lopes, P., Saucier, C., Teissedre, P.-L., & Glories, Y. (2007). *Main routes of oxygen ingress through different closures into wine bottles*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. (5167-5170)
- Lopes, P., Silva, M., Pons, A., Tominaga, T., Lavigne, V., Saucier, C., Darriet, P., Teissedre, P.-L., Dubourdieu, D. (2009). *Impact os oxygen dissolved at bottling and transmitted through closures on the composition and sensory properties of a sauvignon blanc wine during bottle storage*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. (10261-10270)
- Nomaticorc - Wine Closures: Select Series. Obtido em 21 de Janeiro de 2014 de: <http://www.nomacorc.com/wine-closure-select-series.php>
- Ribéreau-Gayon, J. (1933). Ribéreau-Gayon, J. *Dissolution d'oxygène dans les vins*. In Contribution à l'étude des oxidations et réductions dans les vins. Application à l'étude de vieillissement et des casses, 2ª edição; Delmas: Bordeaux, France. (35)
- Risch, S. (2009). *Food packaging history and innovations*. Journal of Agricultural Food Chemistry. (8089-8092)
- Silva, M., Julien, M., Jourdes, M., Teissedre, P.-L. (2011). *Impact of closures on wine post-bottling development: a review*. European Food Research and Technology. (905-914)
- Skouroumounis, G., Waters, L. (2007). *Oxygen ingress into bottled wines*. AWRI Technical Review N.º 107. (13-19)
- Valade, M., Bunner, D., Tribaut-Sohier, I., Laurent, M., Landrieux, A., Tusseau, D., Moncomble, D. (2012). *Le gaz carbonique et l'oxygène lors de l'élaboration du champagne*. Revue Française d'Œnologie. (2-11)
- Vidal, J.-C., Guillemat, B., Chayvialle, C. (2010). *Oxygen transmission rate of screwcaps by chemoluminescence and air/capsule/headspace/acidified water system*. Bulletin-OIV. (189-198)

Anexo 1 Dados para a calibração do equipamento de quimioluminescência

Neste anexo apresentam-se os dados para a calibração do equipamento Fibox 3 LCD-trace, para os sensores PSt6, utilizado para o método da quimioluminescência.

Tabela A1. 1 - Valores para a calibração do equipamento de quimioluminescência, para os sensores PSt6.

Pressão Atmosférica	973	hPa
----------------------------	------------	------------

	Sinal da Fase (°)	Gama de Validação (°)	Temperatura (° C)	Gama de Validação (° C)	Amplitude (μV)
Calibração 0					
0% ar saturado	65,76	63,00 - 68,00	20,0	18,0 - 22,0	57498
2ª calibração					
9,62% ar saturado	24,04	22,00 - 28,00	20,0	18,0 - 22,0	21602

Tempo de Resposta [t90]	< 60 s	Gama de Validação	< 60 s
--------------------------------	------------------	--------------------------	------------------

Anexo 2 Características e Propriedades dos Sensores PSt6

Neste anexo apresentam-se as características e as propriedades dos sensores PSt6 utilizados para a quantificação do oxigênio presente em garrafa, pelo método da quimioluminescência.

Tabela A2. 1 - Características dos sensores PSt6.

	Oxigênio Dissolvido	Oxigênio Dissolvido e Gasoso
Gama de Medição	0 - 1,8 mg/L	0 - 4,2% oxigênio saturado
	0 - 56,9 μmol	0 - 41,4 hPa
Limite de Detecção	1 $\mu\text{g/L}$ de oxigênio dissolvido	0,002% oxigênio
Resolução		$\pm 0,0007\%$ até $0,002\% \text{ O}_2$
	$\pm 0,010 \mu\text{mol}$ até $0,03 \mu\text{mol}$	$\pm 0,0015\%$ até $0,2\% \text{ O}_2$
	$\pm 0,020 \mu\text{mol}$ até $2,8 \mu\text{mol}$	$\pm 0,007\%$ até $0,023\% \text{ O}_2$
		$\pm 0,015\%$ até $2,0\% \text{ O}_2$
Precisão (20 °C)	$\pm 1 \mu\text{g/L}$ ou 3% da concentração respectiva	
Tempo de Resposta	< 40 s	< 6 s
Gama de Temperatura	0 - 50 °C	

Tabela A2. 2 - Propriedades dos sensores PSt6.

Compatibilidade	Soluções aquosas, etanol, metanol
Não há interferências na solubilidade com	pH 1 - 14; CO_2 , H_2S , SO_2 e espécies iônicas
Há interferências na solubilidade com	Solventes orgânicos (acetona, tolueno, clorofórmio ou cloreto de metileno) e gás cloro
Procedimentos de esterilização	Esterilização a vapor, óxido de etileno e irradiação gama
Procedimentos de limpeza	Limpeza no local, 3% H_2O_2 e agentes ácidos (HCl , H_2SO_4) máx. 4 - 5%
Calibração	Dois pontos convencionais de calibração em ambiente livre de oxigênio (azoto) e uma segunda calibração
Estabilidade no armazenamento	2 anos desde que o sensor seja armazenado no escuro

Anexo 3 Otimização do estudo de transmissão de oxigênio para vinhos efervescentes


Neste anexo apresentam-se os dados para a determinação de diferentes pressões em vinho efervescente.

Tabela A3. 1 - Dados para a determinação de diferentes pressões em vinho efervescente.

Pressão Final (bar)	Concentração em Ácido	pH Inicial	Massa Bicarbonato de Sódio (g)	pH Final
0,8	0,33%	1,535	8,68	7,2
1,3	0,67%	1,267	20,13	7,1
2	1,00%	1,100	22,08	7,1
2,3	1,33%	1,005	25,17	6,9
3	1,40%	1,200	19,82	6,9
3,2	1,47%	0,990	22,95	6,9
3,6	1,60%	0,968	28,43	6,9
3,9	1,73%	0,905	28,28	6,9
4,1	1,80%	0,903	28,41	6,9
4,2	2,00%	0,824	33,07	7,0
4,4	1,93%	0,862	28,61	6,9
5	2,33%	0,761	34,51	6,9
5,6	2,47%	0,773	31,22	6,9
6	2,53%	0,769	33,01	6,9
6,1	2,60%	0,760	33,83	6,8
6,4	2,67%	0,751	35,62	6,9
6,9	2,67%	0,760	34,84	6,7


Anexo 4 Perfil do gargalo das garrafas de champanhe utilizadas

Neste anexo apresenta-se o perfil do gargalo das garrafas de champanhe utilizadas no projecto, este perfil foi obtido na Champcork.

	Controlo de Gargalos de Garrafas		Data: 05-12-013
	Champcork		Página 1
Cód. Ensaio:	123/13	Cliente:	Dr. Paulo Lopes
Garrafa:	CHAMPANHE	Fornecedor:	Ernesto Pereira
Marca do Molde:		Operador:	Paula Silva
Profundidade:	44 (mm) Dist. Do Topo: 0 (mm)	Resolução:	2 mm
Data:	2013-Dez-05	Responsável:	Salomé Reis
Observações:			

Média das medidas a 0 e 90 Graus (mm)


Profundidade	Garrafa 1	Garrafa 2
0,0	17,61	17,59
2,0	17,52	17,58
4,0	17,55	17,67
6,0	17,73	17,87
8,0	17,90	18,07
10,0	17,91	18,11
12,0	17,80	18,01
14,0	17,86	18,02
16,0	18,29	18,34
18,0	19,05	18,96
20,0	19,95	19,74
22,0	20,76	20,45
24,0	21,38	20,98
26,0	21,84	21,33
28,0	22,20	21,58
30,0	22,50	21,78
32,0	22,78	21,97
34,0	23,07	22,14
36,0	23,34	22,32
38,0	23,60	22,52
40,0	23,85	22,73

	Controlo de Gargalos de Garrafas	Data: 05-12-013
	Champcork	Página 2

(continuação)		
Profundidade	Garrafa 1	Garrafa 2
42,0	24,12	22,97
44,0	24,36	23,27

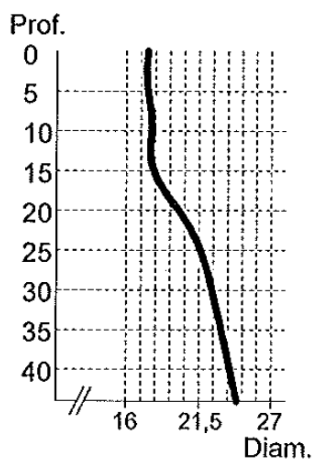
Tabela Estatística «Média» (mm)

Profundidade	Média	Conicidade	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0,0	17,60	0,00	0,05	17,54	17,64
2,0	17,55	-0,05	0,06	17,48	17,63
4,0	17,61	0,01	0,09	17,52	17,74
6,0	17,80	0,20	0,11	17,71	17,96
8,0	17,98	0,38	0,13	17,86	18,17
10,0	18,01	0,41	0,16	17,82	18,20
12,0	17,91	0,31	0,17	17,66	18,07
14,0	17,94	0,34	0,16	17,70	18,06
16,0	18,31	0,71	0,12	18,15	18,42
18,0	19,01	1,41	0,11	18,89	19,15
20,0	19,84	2,24	0,16	19,63	20,01
22,0	20,60	3,00	0,21	20,32	20,80
24,0	21,18	3,58	0,26	20,84	21,44
26,0	21,59	3,99	0,32	21,19	21,91
28,0	21,89	4,29	0,38	21,44	22,28
30,0	22,14	4,54	0,44	21,64	22,59
32,0	22,37	4,77	0,49	21,83	22,87
34,0	22,61	5,01	0,55	22,03	23,17
36,0	22,83	5,23	0,60	22,25	23,44
38,0	23,06	5,46	0,63	22,50	23,71
40,0	23,29	5,69	0,66	22,69	23,98
42,0	23,54	5,94	0,68	22,87	24,27
44,0	23,83	6,23	0,68	23,12	24,58

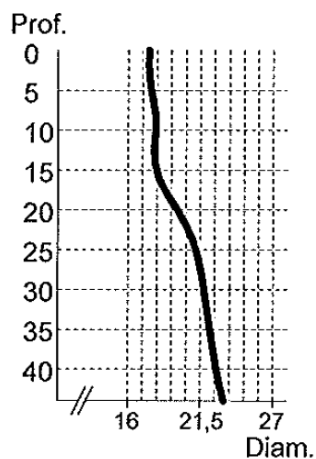
	Controlo de Gargalos de Garrafas	Data: 05-12-013
	Champcork	Página 3

Desenho pormenorizado «Média» (mm) - Escala 1:1

Garrafa 1

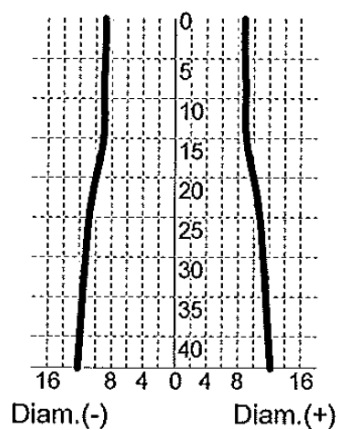


Garrafa 2

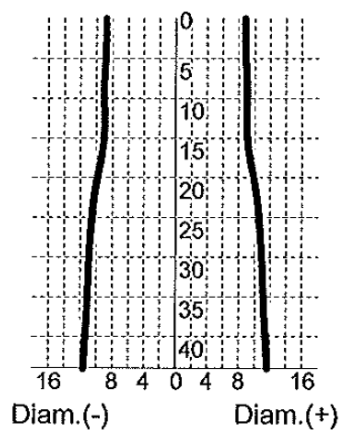


Perfil do Gargalo «Média» (mm) - Escala 1:1

Garrafa 1




Garrafa 2




Anexo 5 Perfil do gargalo das garrafas de cerveja

Neste anexo apresenta-se o perfil do gargalo das garrafas de cerveja, este perfil foi obtido na Champcork.

	Controlo de Gargalos de Garrafas		Data: 05-12-013
	Champcork		Página 1
Cód. Ensaio:	122/13	Cliente:	M.K.M
Garrafa:	CERVEJA	Fornecedor:	-
Marca do Molde:		Operador:	Paula Silva
Profundidade:	44 (mm) Dist. Do Topo: 0 (mm)	Resolução:	2 mm
Data:	2013-Dez-05	Responsável:	Salomé Reis
Observações:			

Média das medidas a 0 e 90 Graus (mm)


Profundidade	Garrafa 1	Garrafa 2
0,0	18,48	18,51
2,0	18,71	18,66
4,0	18,90	18,85
6,0	18,80	18,77
8,0	18,72	18,68
10,0	18,66	18,67
12,0	18,65	18,65
14,0	18,62	18,62
16,0	18,61	18,62
18,0	18,57	18,58
20,0	18,54	18,59
22,0	18,56	18,58
24,0	18,59	18,65
26,0	18,63	18,72
28,0	18,71	18,78
30,0	18,81	18,84
32,0	18,88	18,84
34,0	18,78	18,73
36,0	18,77	18,71
38,0	18,85	18,67
40,0	18,84	18,79

	Controlo de Gargalos de Garrafas	Data: 05-12-013
	Champcork	Página 2

(continuação)		
Profundidade	Garrafa 1	Garrafa 2
42,0	19,84	19,73
44,0	21,87	21,72

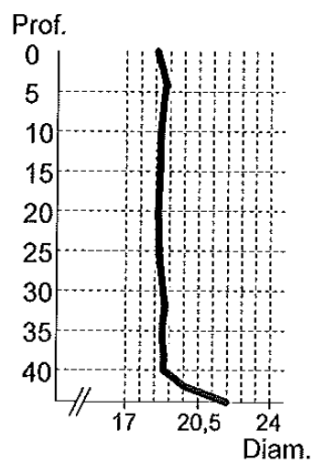
Tabela Estatística «Média» (mm)

Profundidade	Média	Conicidade	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0,0	18,49	0,00	0,09	18,41	18,59
2,0	18,69	0,20	0,09	18,60	18,80
4,0	18,87	0,38	0,04	18,84	18,92
6,0	18,79	0,30	0,02	18,76	18,80
8,0	18,70	0,21	0,03	18,67	18,74
10,0	18,67	0,18	0,03	18,63	18,71
12,0	18,65	0,16	0,02	18,63	18,66
14,0	18,62	0,13	0,02	18,60	18,64
16,0	18,61	0,12	0,01	18,60	18,62
18,0	18,57	0,08	0,03	18,55	18,61
20,0	18,56	0,07	0,03	18,52	18,59
22,0	18,57	0,08	0,05	18,53	18,62
24,0	18,62	0,13	0,06	18,57	18,71
26,0	18,67	0,18	0,07	18,60	18,76
28,0	18,75	0,26	0,07	18,66	18,82
30,0	18,82	0,33	0,06	18,75	18,87
32,0	18,86	0,37	0,07	18,80	18,95
34,0	18,76	0,27	0,09	18,68	18,87
36,0	18,74	0,25	0,07	18,66	18,83
38,0	18,76	0,27	0,18	18,62	19,03
40,0	18,81	0,32	0,07	18,76	18,91
42,0	19,78	1,29	0,09	19,65	19,84
44,0	21,79	3,30	0,22	21,50	21,98

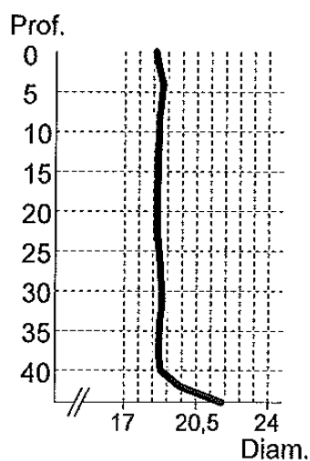
	Controlo de Gargalos de Garrafas	Data: 05-12-013
	Champcork	Página 3

Desenho pormenorizado «Média» (mm) - Escala 1:1

Garrafa 1

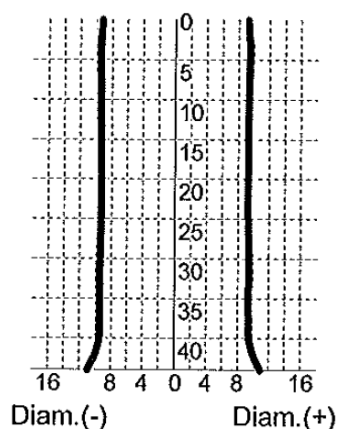


Garrafa 2



Perfil do Gargalo «Média» (mm) - Escala 1:1

Garrafa 1



Garrafa 2

